

616.15  
I 59

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
NICOLAE TESTEMIȚANU**

**INVESTIGAȚII HEMATOLOGICE**  
**(Recomandări metodice)**

**Chișinău  
2008**



Aprobat de Consiliul de experți al MS RM, Consiliul metodic central USMF  
*Nicolae Testemițanu*, proces-verbal nr.4 din 23.06.2006

**Autori:**

**Vasile Niguleanu**, prof.,dr.hab.med., Catedra Diagnostic de Laborator Clinic,  
USMF *Nicolae Testemițanu*

**Ion Corcîmaru**, prof.,dr.hab.med., membru corespondent AȘ RM, Catedra  
Hematologie, USMF *Nicolae Testemițanu*

**Valentin Gudumac**, prof.,dr.hab.med., Catedra Diagnostic de Laborator  
Clinic, USMF *Nicolae Testemițanu*

**Victor Rîvneac**, prof.,dr.hab.med., Laboratorul Morfologie, USMF *Nicolae  
Testemițanu*

**Radu Niguleanu**, dr.med., asistent universitar, Catedra Morfopatologie, USMF  
*Nicolae Testemițanu*

**Liliana Rotaru**, asistent universitar, Catedra Diagnostic de Laborator Clinic,  
USMF *Nicolae Testemițanu*

**Recenzenți:**

**Victor Botnaru**, dr.hab.med, prof.universitar, Catedra Medicină Internă nr.2

**Minodora Mazur**, dr.hab.med., prof.universitar, Catedra Medicină Internă  
nr.3.

Recomandările metodice cuprind descrierea minuțioasă a metodelor hematologice de  
bază practicate în majoritatea laboratoarelor clinice. Lucrarea conține o serie de informații  
pe care le poate utiliza clinicianul confruntat zi de zi cu patologia hematologică.

Sunt predeterminate medicilor-rezidenți, specialiștilor-medici de laborator clinic, me-  
dicilor clinicieni de la cursurile de reciclare tematică, cadrelor didactice de la colegiile  
de specialitate în care se predau cunoștințe în domeniul tehnicilor de laborator.

**DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII**

Investigații hematologice: (Recomandări metodice) / aut.:  
Vasile Niguleanu, Ion Corcîmaru, Valentin Gudumac [et al.]; Min.  
Sănătății al Rep. Moldova, Univ. de Stat de Medicină și Farmacie  
„Nicolae Testemițanu”. – Ch.: CEP „Medicina”, 2008. – 81p.

Bibliogr.: p. 81

Tiraj – 100 ex.

ISBN 978-9975-915-55-7

616.15-07(076.5)

I 59

**Redactor:** Lidia Căssa

**Machetare computerizată:** Ala Livădar

© CEP *Medicina*, 2008

© V.Niguleanu și alții, 2008

## CUPRINS

Introducere.....	5
<b>Capitolul I. GENERALITĂȚI PRIVIND METODELE UNIFICATE ALE EXAMENULUI SÂNGELUI PERIFERIC.....</b>	<b>6</b>
1.1 Termeni și definiții.....	6
1.2 Particularitățile de vârstă ale indicilor hematologici.....	8
1.3 Factorii care pot influența rezultatele testelor hematologice.....	17
<b>Capitolul II. TEHNICI DE LABORATOR PRIVIND EFECTUAREA ANALIZEI GENERALE A SÂNGELUI.....</b>	<b>23</b>
2.1. Recomandări generale pentru colectarea, prepararea și manevrarea probelor de sânge.....	23
2.2 Numărătoarea eritrocitelor.....	28
2.2.1. Numărătoarea eritrocitelor la analizoare hematologice automate computerizate.....	28
2.2.2. Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat.....	28
2.2.3. Numărătoarea reticulocitelor la colorarea cu albastru brillant de crezil, azur I sau azur II direct pe lamă sau în eprubetă.....	32
2.3. Numărătoarea trombocitelor.....	34
2.3.1. Numărătoarea trombocitelor prin metode directe în camere de numărat.....	34
2.3.2. Numărătoarea trombocitelor în frotiu.....	36
2.3.3. Numărătoarea leucocitelor în camera de numărat.....	37
2.4. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH).....	38
2.5. Rezistența osmotică a eritrocitelor (rezistența globulară).....	40
2.6. Analiza morfologică a elementelor figurate ale sângelui și calculul diferențiat al formulei leucocitare.....	42
2.7. Examenul microscopic.....	46
<b>Capitolul III. STUDIUL MORFOLOGIC AL ELEMENTELOR FIGURATE ALE SÂNGELUI.....</b>	<b>48</b>
3.1 Studiul seriei eritrocitare.....	48
3.1.1 Morfologia seriei eritrocitare normale – precursorii identificați morfologic.....	51
3.1.2 Modificările indicilor eritrocitari în stările patologice.....	53
3.1.2.1 Modificările numărului de eritrocite.....	54
3.1.2.2. Anomalii ale indicilor eritrocitari, care pot fi descrise pe frotiu...	55



3.2 Studiul seriei leucocitare.....	58
3.2.1 Morfologia celulelor granulocitopoiezei.....	59
3.2.2 Anomaliile celulelor seriei granulocitare.....	62
3.2.2.1.Modificările numărului de granulocite.....	62
3.2.2.2 Anomaliile morfologice ale granulocitelor.....	65
3.3. Studiul seriei limfocitare .....	67
3.3.1 Funcția limfocitelor.....	68
3.3.1.1 Anomalii ale limfocitelor.....	69
3.4 Seria monocitară .....	70
3.4.1 Morfologia celulelor monocitopoiezei.....	72
3.4.2 Anomaliile seriei monocitare.....	73
3.5 Seria trombocitară .....	73
3.5.1 Fiziologia celulelor seriei trombocitare.....	74
3.6 Valorile normale (intervale de referință) ale mielogramci .....	74
<b>Bibliografie.....</b>	<b>81</b>

## Introducere

Etapela diagnosticului bolilor hematologice sunt identice cu cele din alte domenii ale medicinii: anamneză, examen obiectiv, investigații de laborator. Totuși examenul bolnavilor cu boli hematologice prezintă unele particularități. Între afecțiunile sângelui și organelor hematopoietice și afecțiunile altor organe există un raport atât de strâns, încât în orice domeniu de patologie este implicată și patologia hematopoietică. Prin urmare, multe afecțiuni nehematologice se manifestă și cu semne de modificări hematologice. Din aceste considerente examenele hematologice au importanță interdisciplinară.

Analiza generală a sângelui este examenul de rutină care poate fi efectuat în orice laborator și care uneori poate fi suficient pentru diagnosticul unor afecțiuni.

Numărarea eritrocitelor, leucocitelor și trombocitelor, alături de examenul frotiului de sânge periferic, aduce informații esențiale privind rata efectivă a hematopoiezei, deficiența unor compuși esențiali: fier, vitamină B<sub>12</sub>, acid folic, anomalii congenitale sau dobândite, existența unor infecții sau a unor reacții alergice, invazia măduvii osoase cu celule maligne sau agenți infecțioși.

O etapă importantă în schema de investigații hematologice este examenul măduvii osoase, care apreciază celuritatea medulară, raportul dintre precursorii seriei mieloide și eritroide, prezența elementelor maligne, a unor depozite celulare anormale în bolile metabolice.

Pe lângă metodele speciale de investigație, în lucrare sunt descrise metodele de rutină, care pot fi efectuate în orice laborator. Exprimăm speranța că materialele incluse în această lucrare vor servi drept stimul pentru o nouă etapă de perfecționare a asigurării cu investigații de laborator a instituțiilor medico-sanitare, contribuind la creșterea eficienței asistenței medicale acordate pacienților.

# Capitolul I

## GENERALITĂȚI PRIVIND METODELE UNIFICATE ALE EXAMENULUI SÂNGELUI PERIFERIC

### 1.1 Termeni și definiții

Termenii și expresiile de mai jos se definesc după cum urmează:

- a) *depistarea, identificarea* este proba calitativă;
- b) *determinarea, dozarea* este proba cantitativă;
- c) *materialul biologic pentru cercetare* este acel, în care se efectuează depistarea sau determinarea;
- d) *eșantion* este cantitatea de material biologic adus în laborator pentru cercetare;
- e) *proba de cercetat* este proba de material biologic supusă prelucrării în procesul de depistare sau determinare;
- f) *proba martor* este proba supusă aceleiași prelucrări ca și proba de cercetat, dar care conține:
  - 1) aceiași reactivi, dar fără materialul biologic (sau fără soluția etalon);
  - 2) material biologic diluat în același mod ca și proba de cercetat, dar fără reactivi;
  - 3) aceiași reactivi plus materialul biologic inactivat;
- g) *proba de control* este proba de material de control supusă aceleiași prelucrări ca și proba de cercetat pentru depistarea erorilor posibile și controlul calității lucrului efectuat;
- h) *soluția etalon, soluția de calibrare* este soluția care se folosește pentru construirea graficului de calibrare;
- j) *proba etalon, proba de calibrare* este proba de soluție etalon sau de calibrare supusă aceleiași prelucrări ca și proba de cercetat;
- i) *calcularea rezultatelor* se efectuează la determinare, dozare;

l) *aprecierea rezultatelor* se efectuează la depistare;

m) *sângele periferic* (circulant) prezintă un lichid compus din plasmă și celule sanguine: eritrocite (globulele roșii, RBC – Red Blood Cells; leucocite (globulele albe, WBC – White Blood Cells); și trombocite (plachete sanguine, Platelets, Plts). La persoanele sănătoase în sângele periferic sunt prezente doar celule sanguine mature, celulele imature se găsesc în țesutul hematopoietic. În practica curentă examenul sângelui periferic cel mai des solicitat în laboratorul clinic poartă titlul de *hemogramă* sau *analiza generală a sângelui*, care poate fi completă sau incompletă (parțială);

n) *hemograma completă* cuprinde numărătoarea celulelor sanguine (eritrocite, leucocite, formula leucocitară, trombocite și reticulocite), descrierea morfologiei celulelor sanguine, dozarea hemoglobinei, determinarea hematocritului (Ht), valorii globulare și VSII. O astfel de examinare a primit în republica noastră denumirea de „*analiză clinică generală a sângelui*” sau simplu „*analiză generală a sângelui*”;

o) *hemograma incompletă* cuprinde un număr mai redus de parametri.

În clinică adesea este nevoie de studiat numai unii parametri ai sângelui periferic în funcție de necesitățile pentru diagnostic. Astfel se pot executa următoarele examene:

– *eritrograma* (numărătoarea eritrocitelor, reticulocitelor, determinarea hemoglobinei, valorii globulare și anomaliile morfologice ale eritrocitelor);

– *leucograma* (numărătoarea leucocitelor și formulei leucocitare, elementele albe imature și anomalii morfologice);

– *trombocitograma* (numărătoarea trombocitelor și observarea modificărilor lor morfologice).

Adesea, în condiții de ambulator se exercită analiza incompletă a sângelui periferic, așa-numită „triada” – numărul de leucocite, nivelul de hemoglobină și VSII;

p) *hemoleucograma* reunește informații referitoare la populațiile de eritrocite, leucocite și trombocite oferite de un analizator automat.

*De menționat că numărătoarea trombocitelor și reticulocitelor este foarte importantă și ea trebuie efectuată în mod obligatoriu la examinarea hemogramei, în special, în cazurile când sunt devieri patologice ale celorlalți indici sau la cererea medicului clinician.*

(o) *Intervalul de referință biologică* - intervalul central de 95% a distribuției valorilor de referință;

*Nota 1.* Acesta înlocuiește un astfel de termen utilizat greșit precum este "interval normal".

*Nota 2.* Este o înțelegere arbitrară, dar general acceptată de a defini intervalul de referință drept intervalul central de 95%. În unele cazuri particulare s-ar putea întâmpla ca altă mărime sau o configurație asimetrică a intervalului de referință să fie mai potrivită. Intervalele de referință (valorile „normale”) reprezintă mai curând date obținute statistic decât criteriile de clasificare a pacienților în persoane bolnave și persoane sănătoase și se bazează pe definiția statistică a normalului (normale fiind acele persoane la care 95% dintre investigații sunt în limite normale, în timp ce restul (5% dintre examinările independente) au valori aflate în afara acestor intervale de referință, în absența unei boli). Tabelele cu valori de referință conțin date statistice valabile pentru 95% din populație; cifrele situate în afara acestor intervale nu indică neapărat prezența bolii.

## **1.2 Particularitățile de vârstă ale indicilor hematologici**

În *tabelele 1.1 - 1.7 și figura 1.1* sunt prezentate intervalele de referință ale hemogramei (analizei generale a sângelui) în funcție de vârstă la persoanele practic sănătoase. De menționat că începând cu perioada copilăriei în sistemul sanguin se depistează modificări determinate de vârstă și care se caracterizează printr-o anumită dinamică a nivelului de hemoglobină, eritrocite, leucocite și altor indici ai hemogramei. Chiar din prima zi de la naștere se înregistrează creșterea conținutului de hemoglobină și eritrocite; acești indici într-o anumită măsură cresc din cauza hemoconcentrației și hemotransfuziei placentare, iar începând cu a 2-a zi dimpotrivă, scad. Eritropoieza nou-născutului se caracterizează prin anizocitoză, macrocitoză, micșorarea rezistenței osmotice a eritrocitelor și prezența eritrocariocitelor, care dispar din sângele periferic la sfârșitul perioadei de nou-născut.



Tabelul 1.1

**Parametrii normali ai sângelui periferic la adulți**

Indicii		Parametri normali	
		bărbați	femei
Numărul de eritrocite (RBC)		4,0–5,0 x 10 <sup>12</sup> /l	3,9–4,7 x 10 <sup>12</sup> /l
Hemoglobina (Hb)		130–160 g/l	120–140 g/l
Valoarea globulară		0,85–1,05	
Volumul eritrocitar mediu (MCV)		80,0–100 fl	
Hemoglobina eritrocitară medie (MCH)		27,0–31,0 pg	
Concentrația eritrocitară medie de hemoglobină (MCHC)		30,0–38,0 %	
Numărul reticulocitelor		2,0–10,0 %	
Numărul de leucocite totale		4,0–9,0 (5,0–10,0) x 10 <sup>9</sup> /l	
Neutrofile	Nesegmentate	1,0–6,0% (medium 3,5%); 0,04–0,3 x 10 <sup>9</sup> /l	
	Segmentate	47,0–72,0 % (0,02–0,3 x 10 <sup>9</sup> /l)	
Eozinofile		0,5–5,0 % (0,02–0,3 x 10 <sup>9</sup> /l)	
Bazofile		0–1,0 % (0–0,065 x 10 <sup>9</sup> /l)	
Limfocite		19,0–37,0 % (1,2–3,0 x 10 <sup>9</sup> /l)	
Monocite		3,0–11,0 % (0,09–0,6 x 10 <sup>9</sup> /l)	
Numărul trombocitelor		150–400 x 10 <sup>9</sup> /l	
VSH mm/oră		2,0–10,0	2,0 15,0

Tabelul 1.2

**Intervalele de referință ale hemoleucogramei în funcție de vârstă**

Vârsta	Eritrocite (x 10 <sup>12</sup> /l)	Hb (g/l)	Ht (%)	VEM (fl)	HEM (pg)	RDW (%)
Nou-născuți	4,1–6,7	150–240	44–70	102–115	33–39	13,0–18,0
1–23 luni	3,8–5,4	105–140	32–42	72–88	24–30	11,5–16,0
2–9 ani	4,0–5,3	115–145	33–43	76–90	25–31	11,5–15,0
10–17 ani						
Bărbați	4,2–5,6	125–161	36–47	78–95	26–32	11,5–14,0
Femei	4,1–5,3	120–150	35–45	78–95	26–32	11,5–14,0

> 18 ani					
Bărbați	4, 7-6, 0	135-180	42 52	78-100	27-31
Femei	4,2 5,4	125-160	37-47	78-100	27-31

Notă: Volumul trombocitar mediu = 6,0-9,5 fl pentru toate grupele de vârstă. Trombocitele =  $150-400 \cdot 10^9/l$  pentru toate grupele de vârstă. Concentrația medie a hemoglobinei eritrocitare = 32-36 % la toate grupele de vârstă.

Tabelul 1.3

## Indicii hemogramei la copiii sănătoși cu vârsta de 1-12 luni

(Гур А.Ф. и др., 1970)

Vârsta, luni	Eritrocite, $10^{12}/l$	Hemoglobină g/l	Trombocite, $10^9/l$	Leucocite, $10^9/l$	Reticulocite, %	VSH, mm/oră
1	4,1-5,3	124-166	214-366	7,6-12,4	0,49-1,09	3-7
2	3,6-4,8	110-148	207-373	7,2-11,6	0,57-1,33	4-8
3	3,8-4,6	111-135	205-395	7,3-11,1	0,51-1,25	5-9
4	4,0-4,8	112-132	205-375	7,1-11,5	0,39-1,13	4-10
5	3,7-4,5	112-132	203-377	6,6-11,6	0,45-1,01	4-10
6	3,8-4,6	115-135	206-374	6,7-11,3	0,39-0,97	5-9
7	3,8-4,6	111-129	215-365	6,6-11,4	0,44-1,12	5-11
8	3,8-4,6	110-130	199-361	7,2-11,4	0,45-1,09	4-10
9	3,8-4,6	110-130	205-355	7,1-10,9	0,45-1,16	4-10
10	3,8-4,6	110-130	203-357	6,8-11,4	0,44-1,04	4-10
11	3,9-4,7	110-130	207-353	7,0-10,8	0,43-1,07	5-9
12	3,9-4,7	109-131	218-362	6,8-11,0	0,41-1,17	4-10

Tabelul 1.4

## Particularitățile de vârstă ale unor indici ai eritrogramei

(Мосягина Е.Н., 1969)

Vârsta	Indicele de culoare	Conținutul mediu de Hb într-un eritrocit, pg	Concentrația medie de Hb într-un eritrocit, %	Diametrul mediu al eritrocitului, mkm	Volumul mediu al eritrocitului, fl	Grosimea medie a eritrocitului, mkm	Indicele de sferocitate
1-2 zile	0,91-1,19	30-40	37,4-38,6	7,2-9,0	95-117	2,0-2,2	3,5-4,5
5-6 zile	0,94-1,18	31,1-39,3	36,5-37,5	7,3-9,1	93-113	1,8-2,2	3,5-4,5

Continuare

9-10 zile	0,96-1,16	32,3-38,3	36,5-37,5	7,3-8,9	92-108	1,8-2,2	3,5-4,5
Sfârșitul 3-a săptămână	0,90-1,10	30,3-36,3	35,6-36,4	7,2-8,6	88-102	1,7-2,1	3,6-4,6
» primei luni	0,80-1,00	27-33	31,6-32,4	7,1-8,5	83-97	1,7-2,1	3,6-4,6
» 2-a lună	0,80-0,96	26,3-32,3	30,6-31,4	6,8-8,2	84-96	1,8-2,2	3,3-4,3
» 4-a lună	0,80-0,96	26,3-32,3	30,6-31,4	6,8-8,0	74-86	1,7-2,1	3,4-4,4
» 6-a lună	0,76-0,90	25-29	30,7-31,4	6,7-7,9	71-83	1,7-2,1	3,4-4,4
» 8-a lună	0,77-0,91	26-30	29,7-30,4	6,7-7,9	71-83	1,7-2,1	3,4-4,4
» 1-lui an	0,74-0,94	25-31	29,7-30,3	6,4-7,6	72-84	1,8-2,2	3,2-4,2
» 2-lea an	0,69-0,99	22-32	31,7-32,4	6,7-7,7	72-84	1,7-2,1	3,3-4,3
» 3-lea an	0,70-1,00	22,3-32,3	33,7-34,4	6,8-7,8	77-83	1,7-2,1	3,3-4,3
4-5 ani	0,71-1,01	22,7-32,7	33,6-34,4	6,8-7,8	77-83	1,7-2,1	3,3-4,3
6-10 ani	0,71-1,01	22,7-32,7	33,6-34,4	6,8-7,8	77-83	1,7-2,1	3,3-4,3
11-15 ani	0,75-1,05	25-35	34,6-35,4	6,9-7,9	81-87	1,8-2,2	3,2-4,3

Tabelul 1.5

**Indicii hemogramei la copiii sănătoși cu vârsta cuprinsă între 2-15 ani (Tur A.F. și alții, 1970)**

Vârsta, ani	Eritrocite, $10^{12}/l$	Hemoglobina, g/l	Trombocite, $10^9/l$	Leucocite, $10^9/l$	Reticulocite, %	VSH, mm/oră
2	4,0-4,4	110-132	208-352	6,6-11,2	0,34-1,0	5-11
3	4,0-4,4	111-133	209-351	6,3-10,7	0,33-1,03	5-11
4	4,0-4,4	112-134	196-344	6,0-9,8	0,38-0,96	6-12
5	4,0-4,4	114-134	208-332	6,0-9,8	0,30-0,96	5-11
6	4,1-4,5	113-135	220-360	5,8-9,2	0,36-1,04	5-11

7	4,0-4,4	115-135	205-355	5,9-9,3	0,25-0,97	6-12
8	4,2-4,6	116-138	205-375	5,7-8,9	0,38-0,98	5-11
9	4,1-4,5	115-137	177-343	5,7-8,7	0,38-0,82	6-12
10	4,2-4,6	118-138	211-349	5,8-8,8	0,32-1,0	5-11
11	4,2-4,6	114-140	198-342	5,4-8,8	0,38-0,94	4-10
12	4,2-4,6	118-142	202-338	5,6-8,6	0,36-0,86	5-11
13	4,2-4,6	117-143	192-328	5,4-8,0	0,34-0,94	6-10
14	4,2-4,6	121-145	198-342	5,4-8,2	0,31-0,89	4-10
15	4,4-4,8	120-144	200-360	5,5-8,5	0,36-0,84	5-11

Numărul de reticulocite este crescut în prima zi de la naștere, apoi scade treptat, ajungând la valori minime la sfârșitul primei săptămâni de viață a copilului. Tendința spre eritrocitoză, hemoglobinizarea crescută a eritrocitelor, reticulocitoza, prezența eritrocariocitelor la nou-născuți sunt cauzate de insuficiența aprovizionării cu oxigen a fătului în perioada dezvoltării intrauterine. Acest fapt conduce la intensificarea eritropoiezei.

După naștere copilul nimerește în condițiile de hiperoxie, se produce mai puțină eritropoictină, fapt ce conduce la o tentință de inhibiție a eritropoiezei. La sfârșitul perioadei nou-născuților, numărul de eritrocite și concentrația de hemoglobină continuă să scadă și valorile minime ale acestor indici se înregistrează la vârsta de 2-4 luni. Ulterior, pe parcursul primului an de viață, acești indici puțin se modifică. Sunt caracteristice hemoglobinizarea mai redusă a eritrocitelor, tendința spre hipocromie ca urmare a epuizării rezervelor de fier. După al doilea an de viață se constată creșterea nivelului de hemoglobină, volumului eritocitar, dispare microcitoza. Numărul de leucocite în primele ore după naștere oscilează în limite mari. În primul an de viață și în anii următori numărul total de leucocite scade. În primele 2 săptămâni de viață a copilului în sângele periferic sunt prezente mielocite și metamiclocite. Imediat după naștere la copiii născuți în termen numărul de monocite este scăzut, în următoarele 2 săptămâni crește, iar apoi din nou scade. Numărul de trombocite în toată perioada copilăriei practic nu se modifică.

Tabelul 1.6

**Formula leucocitară la copiii sănătoși cu vârsta cuprinsă între 1–12 luni, % (Гур А.Ф. и др., 1970)**

Vârsta, luni	Neutrofile		Limfocite	Monocite	Eozinofile
	nesegmentate	segmentate			
1	0,9–3,1	17–39	46–70	4,2–11,8	1,8–6,2
2	0,9–3,1	16–34	52–72	4,4–11,6	1–5
4	1,0–3,0	19–39	48–68	3,7–10,3	1–5
5	0,9–3,1	21–39	48–68	3,7–10,3	1–5
6	0,8–3,2	20–40	47–69	3,9–10,1	1–5
7	0,9–3,1	20–40	48–68	4–10	1,9–5,1
8	0,8–3,2	21–43	45–67	3,8–10,2	1–5
9	0,8–3,2	22–42	46–66	4–10	1–5
10	0,8–3,2	24–44	44–64	4–10	1,2–4,8
11	0,8–3,2	25–43	43–65	4–10	0,9–5,1
12	0,8–3,2	23–43	44–66	4–10	0,8–5,2

Tabelul 1.7

**Formula leucocitară la copiii sănătoși cu vârsta cuprinsă între 2–15 ani, %**

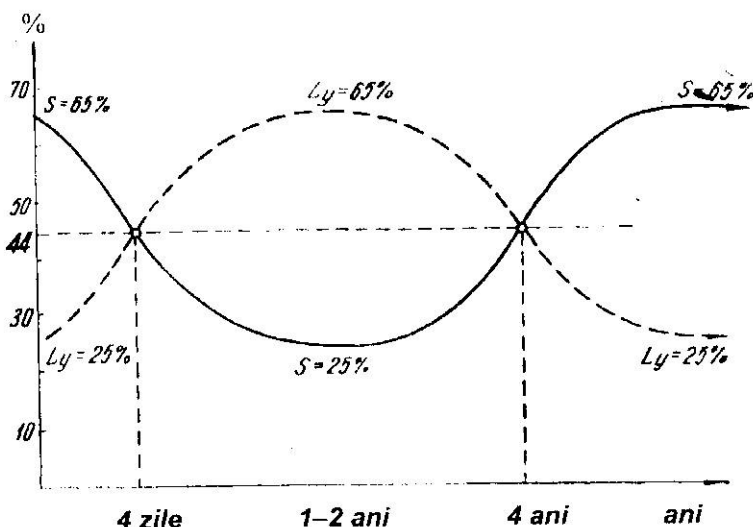
Vârsta, luni	Neutrofile		Limfocite	Monocite	Eozinofile
	nesegmentate	asegmentate			
2	1–3	28–48	37–61	5–9	1–7
3	1–3	32–54	34–56	4–8	1–7
4	2–4	34–54	33–53	4–8	2–6
5	1–3	35–55	33–53	3–9	2–6
6	1–3	38–58	30–50	3–9	2–6
7	1–3	39–57	32–50	4–8	1–5
8	1–3	41–59	29–49	4–8	1–5
9	1–3	43–59	30–46	4–8	1,5–4,5
10	1–3	43–59	30–46	4–8	1–5
11	1–3	45–57	30–46	3–9	1,5–4,5
12	1–3	44–60	29–45	4–8	1–5
13	1–3	45–59	30–44	4–8	1–5
14	1–3	46–60	28–44	4–8	1–5
15	1–3	45–61	29–45	3–9	1–5



La copii formula leucocitară diferă cardinal de cea a adulților (*tabelul 1.6 - 1.7, figura 1.1*). La naștere raportul dintre granulocite și limfocite este același ca și la adulți, constituind în medie 65% granulocite și 25% limfocite.

După naștere procentul granulocitelor începe să scadă rapid, iar procentul limfocitelor să crească, astfel că la a patra zi (3-7 zile după naștere) ambele curbe se încrucișează (ambele cifre se egalează). Aceasta este "*prima încrucișare a leucocitelor*". După prima încrucișare numărul de limfocite continuă să crească, iar granulocitele să scadă și la finele primului an de viață numărul de limfocite atinge valoarea maximă - 65%, iar granulocitele - valorile minime - 25%. Astfel apare un raport invers față de valorile nou-născutului, când granulocitele constituie 65% și limfocitele - 25%. Apoi, numărul de limfocite din nou începe să scadă, iar granulocitele să crească, astfel că la al patrulea an de viață (3-5 ani) numărul lor se egalează, adică se produce a "*doua încrucișare a leucocitelor*". După al 3-5-a an de viață procentul granulocitelor începe treptat să crească și la perioada de pubertate ele ating valorile caracteristice pentru adulți (65%), numărul de limfocite, dimpotrivă, scade până la valoarea medie de 25%. De aici rezultă că la copii între a 4-a zi și al 4-lea an după naștere are loc o "*limfocitoză fiziologică*", care atinge valorile de până la 65%, fapt ce trebuie neapărat luat în considerare la aprecierea formulei leucocitare la copii. Prima și a doua încrucișare se produce la unul și același nivel - 44 %, de aici formula mnemonică - de memorizat cifra 4: *a 4-a zi, al 4-lea an, 44 %*.

Valorile maxime și minime sunt aceleași : 65 % și 25 %. La nou-născut și adult numărul de granulocite constituie 65%, de limfocite - 25 %, la a 4-a zi și al 4-lea an numărul acestora se inversează (*figura 1.1*).



**Figura 1.1. Raportul procentual între granulocite și limfocite în funcție de vârstă.**

Notă: S granulocite segmentate; Ly limfocite.

În scopul satisfacerii necesităților clinice, laboratorul va determina *valorile critice* și intervalele lor „de alertă”, de comun acord cu clinicienii care utilizează laboratorul (tab. 1.8).

*Valorile critice* obținute în urma investigațiilor de laborator indică necesitatea unei intervenții clinice prompte. De asemenea, orice *modificare bruscă* poate avea aceeași semnificație. Acestea mai poartă și numele de *valori de acțiune* sau *valori de revenire automată*.

*Valorile critice* variază în funcție de laboratorul care efectuează analizele respective, de vârsta pacientului, dar și de alți factori.

**Valorile critice ale rezultatelor cercetărilor hematologice  
care necesită intervenții clinice prompte**

Analitul	Valorile critice	
	Nivel scăzut	Nivel crescut
Retuculocite		>20%
Ht (hematocritul)	<20%	>60%
Hb	<70 g/l	200 g/l
Număr de trombocite (adulți)	<40,0 $10^9/l$	>1000,0 $10^9/l$
Număr de trombocite (copii)	<20,0 $10^9/l$	>1000,0 $10^9/l$
Număr de leucocite	<2,0 $10^9/l$ la un pacient primar sau devierea cu 1,0 $10^9/l$ în comparație cu analiza precedentă cu valorile 4,0 $10^9/l$	>50,0 $10^9/l$ la pacientul din staționar
Frotiu de sânge periferic	Prezența celulelor leucemice (progranulocitelor sau blastelor)	

În plus, medicul va fi prompt informat în oricare din următoarele cazuri:

- prezența în frotiul sângelui periferic a limfocitelor atipice, plasmocitelor;
- rezultate pozitive ale testelor de hemaglutinare directă și indirectă Coombs;
- rezultate pozitive ale testului de hemaglutinare directă (Coombs) în sângele din cordonul ombilical;
- titruri semnificative de alloanticorpi antieritrocitari obținute în cursul sarcinii;
- reacție transfuzională indicând incompatibilitatea unității de sânge transfuzat;
- omisiunea administrării de Ig anti-Rh în primele 72 de ore de la expunerea (posibilă sau sigură) la eritrocite Rh-pozitive;
- test pozitiv pentru hepatită, sifilis, sindrom de imunodeficiență dobândită (SIDA);

– depistarea paraziților în sânge (*Plasmodium*, *Babesia*, microfilarii).

### 1.3 Factorii care pot influența rezultatele testelor hematologice

Orice rezultat obținut într-un laborator poate fi incorect datorită multor cauze, indiferent de performanțele tehnice; astfel de rezultate trebuie reverificate.

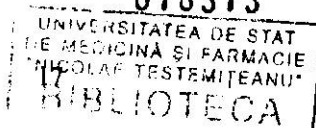
Dacă există indicații, trebuie recoltată o nouă probă, care va fi însoțită de datele pacientului, transportată prompt la laborator și prelucrată imediat; în unele situații, se impune confirmarea rezultatelor de către un alt laborator.

În cazul unor rezultate incorecte, cele mai frecvente sunt erorile corelate cu pregătirea pacientului pentru investigația de laborator. În consecință, pacientul trebuie bine informat pentru ce i se oferă *instrucțiuni simple și precise, fără termeni medicali sofisticati, adaptate capacității sale de înțelegere*. Trebuie acordată cea mai mare atenție etichetării și identificării complete și adecvate a fiecărei probe, care e necesar să fie *întotdeauna* însoțită de un formular de prescripție a investigației.

*Formularul de cerere* va conține informații suficiente pentru identificarea pacientului, precum și informații ce oferă date privind, după caz, examinările solicitate, informația clinică relevantă despre pacient, ce trebuie să includă sexul și data nașterii, ca un minimum necesar pentru interpretare; data și ora colectării probei primare; data și ora primirii probelor de către laborator. Instrucțiunile specifice cu privire la colectarea și manipularea corectă a probei primare vor fi documentate și implementate de către conducerea laboratorului. Probele primare trebuie să poată fi atribuite, în mod normal, după formularul-cerere unui individ identificat.

*Probele primare la care lipsește identificarea adecvată nu vor fi acceptate sau procesate de laborator*

678373



Laboratorul va monitoriza transportul probelor către laborator astfel ca acestea să fie transportate:

a) într-un interval de timp adecvat naturii cercetării solicitate și a cerințelor disciplinare ale laboratorului;

b) într-un interval de temperatură specificat în manualul despre colectarea probei primare și cu protecția desemnată pentru asigurarea integrității probelor, și într-un mod care asigură securitate curierului, publicului larg și a laboratorului primitor, în conformitate cu reglementările în vigoare.

Toate probele primare recepționate vor fi înregistrate într-o carte de intrări, computer sau alt sistem comparabil. Vor fi înscrise data și ora recepționării probei, cât și identitatea persoanei care le-a primit. Vor fi elaborate și documentate criterii pentru acceptarea sau refuzul probei primare.

Efectele *medicației* administrate asupra rezultatelor investigațiilor de laborator nu trebuie niciodată trecute cu vederea. Clinicianul trebuie să fie întotdeauna atent la regimul terapeutic urmat de pacient, la eventualele supradoze de medicamente, de vitamine și de preparate de fier. Adesca, pacienții nu spun medicului ce tratamente (prescrise de alți medici sau autoadministrate) urmează, ceea ce poate determina rezultate fals negative sau fals pozitive. Administrarea medicamentelor cunoscute a interacționa cu metodele de testare (anticoagulantele, anticonvulsivantele, antihipertensivele, antibioticele sau agenții antivirali, hipoglicemiantele orale, hormonii, medicamentele psihotrope) ar trebui întreruptă cu câteva zile înaintea testării, la indicația medicului.

În tabelul de mai jos sunt prezentate numai rezultatele eronate cu cea mai mare frecvență și semnificație clinică. Acest tabel nu include discutarea efectelor medicamentelor asupra rezultatelor testelor de laborator, care sunt chiar mai numeroase, afecțiunile provocate artificial (sindromul Münchhausen), erorile tehnice sau administrative.



### Cauzele rezultatelor de laborator eronate la efectuarea investigațiilor hematologice și măsurile necesare pentru identificarea acestora

Rezultatul eronat	Cauza	Măsurile necesare pentru confirmarea diagnosticului
Număr scăzut de trombocite	(a) Aglutinine dependente de temperatură (b) Aglutinine dependente de EDTA (c) Supraumplerea eprubetelor incorect vidate	(a) Numărarea corectă a plachetelor când proba este menținută la 37°C (b) Se asociază scăderea numărului de leucocite, creșterea Hb sau Ht (c) Numărarea corectă a plachetelor utilizând sânge citratat sau heparinizat (a,b) Histogramele pot fi anormale. Frotiul de sânge evidențiază un număr normal de plachete; poate evidenția agregarea plachetelor. Frotiul de sânge din deget este normal (c) Utilizează un lot diferit de eprubete vidate
Număr crescut de trombocite	(a) Agregarea plachetelor datorită EDTA la un pacient cu artrită reumatoidă. Particule numărate ca plachete la analizoarele automate (b) Bacteriemie (c) Fragmente de blaști leucemici (d) Eritrocite fragmentate (e) Eritrocite de dimensiuni mici Crioglobulinemie prin numărarea cristalelor de globulină	(a) Prezența factorului reumatoid (b) Prezența bacteriilor pe frotiul de sânge (c) VPM scăzut; prezente celule leucemice. (d) MPV crescut. (e) Frotiul de sânge, numărare manuală a eritrocitelor Număr normal de plachete la numărarea manuală sau după încălzire; depozitele de crioglobuline se observă pe frotiul; histogramă anormală
Număr crescut de leucocite	Particule numărate drept leucocite la analizoarele automate (a) Agregate trombocitare (b) Liză citocitară incompletă (c) Crioglobulinemie,	(a) Frotiul de sânge nu evidențiază creșterea leucocitelor; se observă plaje de trombocite (b) Prezența hemoglobinelor anormale sau hepatopatiilor severe (c) Număr normal de leucocite la numărarea manuală sau după încălzire; pe

	<p>numărarea cristalelor de globulină la analizoarele automate</p> <p>(d) Satelitism plachetar</p>	<p>frotiu se observă depozite de crioglobuline; histograme anormale</p> <p>(d) Satelitismul se observă pe probele recoltate pe EDTA, dar nu pe cele heparinizate</p>
Neutrofile scăzute	<p>(a) Aglutinare indusă de frig (aglutinine la rece, crio-fibrinogenemie)</p> <p>(b) Fragilitatea limfocitelor în leucemia limfatică. Apare în cazul utilizării analizoarelor automate</p> <p>(c) Supraumplerea eprubetelor, cu amestecare inadecvată</p>	<p>(d) Pe frotiu se observă agregate leucocitare; histogramă leucocitară anormală. Se corectează prin numărare la 37°C</p> <p>(e) Se corectează prin numărare manuală.</p> <p>(f) Se asociază reducerea numărului de trombocite, creșterea Hb și Ht</p>
<p>Număr crescut de reticulocite</p> <p>Creșterea hemoglobinei</p>	<p>Infecție masivă cu <i>Plasmodium</i></p> <p>(a) Turbiditate datorită numărului crescut de leucocite</p> <p>(b) Creștere marcată a bilirubinemiei</p>	<p>Pe frotiu se observă <i>Plasmodium</i></p> <p>(a) Număr normal de leucocite la numărarea manuală și frotiu de sânge normal. Interferența cu determinarea Hb poate apare la o bilirubină de peste 510 <math>\mu\text{mol/l}</math>; CHEM și HEM pot fi de asemenea crescute</p>
<p>Creșterea HEM și CHEM; Hb poate fi disproporționat crescută</p> <p>Creșterea numărului de eritrocite, scăderea numărului de leucocite și trombocite</p>	<p>Hiperlipidemia interferă cu determinarea Hb, în special când trigliceridele sunt <math>&gt; 11,3 \text{ mmol/l}</math>. Amestecarea inadecvată a eprubetei înainte de testare</p>	<p>Valori normale după înlocuirea plasmei pacientului cu lichid de diluție; histograme leucocitare anormale</p> <p>Se compară numărătorile pe probe preparate corect și incorect</p>

VEM crescut	(a) Creșterea glicemiei (33-110 mmol/l). (b) Întârzierea testării cu 24-48 ore, depozitare la 25°C (c) Filamente de fibrină	(a) Se repetă hemograma după normalizarea glicemiei (b) Se compară cu rezultatele testării imediate sau după păstrare la 5°C (c) Se repetă hemograma utilizând o probă corect recoltată; filamentele de fibrină pot fi observate pe frotiul sanguin; pot fi prezente valori fals crescute ale leucocitelor și fals scăzute ale trombocitelor, cu număr normal al eritrocitelor și histogramă normală
VEM crescut cu CHEM redus	Leucocite crescute > 50 $10^{12}/l$ . Reticulocitoză > 50%	(d) Numărare manuală a leucocitelor Numărarea reticulocitelor
VEM crescut, anizocitoză	Aglutinarea la rece a eritrocitelor	Efectuează numărătoarea la 37°C
Reducerea numărului de eritrocite la analizorul automat, VEM crescut, Ht scăzut	Aglutinarea la rece a eritrocitelor	Efectuează numărătoarea la 37°C
Scăderea numărului de eritrocite, leucocite și trombocite	Recoltare prin cateter, diluarea sângelui	Se compară cu probele recoltate corect
VSH scăzut	(a) Policitemie (b) Eritrocite cu formă anormală (c) Număr foarte mare de leucocite Hipofibrinogenemie	(a) Ht, numărarea eritrocitelor (b) Frotiu pentru drepanocite, sferocite, acantocite (c) Număr de leucocite Semne de CID, necroză hepatică masivă

*Notă: CIEM – concentrație de Hb eritocitară medie; Hb – hemoglobină; IEM – Hb eritocitară medie; Ht – hematocrit; VEM – volumul eritocitar mediu; VPM – volumul plachetar mediu.*

Medicul care propune setul de analize trebuie să identifice prin anamneză și examen clinic factorii ce ar putea influența metodele de testare și rezultatele. Tot el evaluează riscurile la care va fi supus pacientul prin procedurile exploratorii.

*Sunt considerați factori de risc:*

1. Vârsta peste 70 ani.
2. Afecțiunile cronice severe ( ex., diabet zaharat, insuficiență hepatică/renală, astm bronșic, mielom multiplu, convulsiile, bolile neuromusculare), istoricul de alergii pentru latex, substanțe iodate de contrast sau medicamente.
3. Imunodeficiența: infecție cu HIV; transplant de organ, chimioterapie, radioterapie.
4. Probleme grave de vedere.
5. Comportamentul agresiv sau antisocial.
6. Administrarea de diuretice, sedative, analgezice.
7. Deshidratarea.

**Erori generale:**

- neinstruirea pacientului înainte de recoltării;
- pregătirea incorectă sau incompletă a pacientului (ex., dietă neadecvată, administrare concomitentă de medicamente cunoscute a interacționa cu rezultatele de laborator, deshidratare, postură incorectă, status postprandial, consum de alcool);
- colectarea, manevrarea, păstrarea sau etichetarea incorectă a probelor;
- omiterea unor date importante în completarea formularului de analize;
- erori ce țin de specimen: tip necorespunzător, recipient neadecvat, volum insuficient, număr insuficient de probe, mediu de transport necorespunzător, conservant absent sau impropriu;
- întârzierea transportării probelor la laborator;
- neșanteinizarea recipientelor cu pierderea sau contaminarea consecutivă a probelor;
- deteriorarea sau expirarea probelor.

## **Capitolul II**

### **TEHNICI DE LABORATOR PRIVIND EFECTUAREA ANALIZEI GENERALE A SÂNGELUI**

#### **2.1. Recomandări generale pentru colectarea, prepararea și manevrarea probelor de sânge**

*Analiza generală a sângelui (hemograma)* trebuie făcută totdeauna dimineața pe nemâncate cu excepția cazurilor de urgență. Aceasta este o condiție foarte importantă, deoarece alimentația modifică numărul elementelor figurate ale sângelui.

Dacă un bolnav va trebui să repete hemograma de mai multe ori în cursul bolii, este de dorit să i se fixeze totdeauna aceeași oră, deoarece elementele sângelui pot arăta modificări în funcție de oră.

În cazul în care hemograma este practică pe timp de iarnă și bolnavul vine în laborator de afară, din frig, i se va recomanda să aștepte 15–30 de minute, în care timp să dispară modificările vasculare provocate de frig, căci acesta produce uneori modificări importante ale hemogramei.

Transpirațiile mari pot, de asemenea, să modifice mult hemograma. Se va recomanda, deci, bolnavilor să le evite înainte de a veni la laborator pentru recoltare.

*Condiții generale de recoltare.* Procedura de colectare a probelor de sânge este un moment foarte important. De exactitatea lui va depinde mersul ulterior al examenelor și deci exactitatea rezultatelor. De aceea, recoltarea va fi făcută cu multă atenție și precizie.

Recoltarea probelor de sânge se face în mod obișnuit dimineața pe nemâncate, la bolnavi odihniți; la femei este preferabil să nu fie în timpul menstruației.



Postura pacientului în timpul recoltării este importantă: se știe că decubitul dorsal timp de câteva ore mărește volumul plasmatic cu 12–15%.

Schimbarea bruscă a poziției cu trecerea în ortostatism poate majora nivelele HGB, HCT, RBC, proteinelor totale, albuminei, colesterolului și ale trigliceridelor, etc; trecerea din ortostatism în decubit dorsal micșorează nivelele HCT, calciului, proteinelor totale și ale colesterolului.

*Pregătirea pacientului pentru recoltare:*

- se așază pacientul într-o poziție confortabilă (așezat pe scaun sau culcat);
- se consemnează eventualele alergii la dizinfecțanți sau latex;
- exceptând situațiile în care se determină alcoolemia, se dezinfectează locul ce urmează a fi punctat cu alcool 70% prin mișcări circulare aplicate dinspre interior spre exterior;
- se va aștepta până la uscarea zonei, eventual se va șterge cu un tifon; prezența alcoolului poate determina hemolizarea probei;
- se îndepărtează capacul și se inspectează vârful acului înainte de utilizare.

*Puncția venoasă. Material necesar:*

- mănuși;
- seringi de unică folosință sau vacuumuri adecvate;
- ace sterile cu calibrul de 1 mm și diametrul exterior de 1,5 mm (21–22 sau 22–23 G);
- tifon, vată, alcool sanitar, garou.

În practica curentă pentru examinarea indicilor hemogramei este preferată recoltarea sângelui venos pe un anticoagulant ( $K^+$  – EDTA), e preferabil fără utilizarea garoului sau cu aplicarea lui pentru 1–2 min.

Fiecare laborator își rezervă dreptul de a dicta condițiile în care se vor recolta probele.

În ultimul timp pentru recoltarea sângelui venos sau capilar sunt utilizate sisteme de o singură folosință – *vacuumuri* cu anti-

coagulant sau fără (eprubete și accesorii de tipul VACUETTE a diferitor firme) (tabelul 2.1).

Tabelul 2.1

### Tipuri de vacuumuri

Culoarea capacului	Aditiv	Scop	Precauții	Exemple
Roșu	Fără aditiv sau anticoagulant	Permite coagularea probei și separarea serului	Serul trebuie separat în 45 – 60 min de la punctia venoasă. Se transportă în recipiente din plastic	Biochimie, serologie, determinare grup ABO și Rh
Mov	EDTA	Împiedică coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente de plastic	Hematologie, hemoleucogramă
Negru	Citrat de sodiu	Leagă calciul și previne coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente din plastic	VSH (Westergren)
Albăstru	Citrat de sodiu	Leagă calciul și previne coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente din plastic	Hematologie, timpul protrombinic, TTPA, factori ai coagulării
Verde	Heparină	Împiedică coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente de plastic	Biochimie, electroliți, hormoni, gaze sanguine
Galben	Citrat dextroză	Mediu pentru eritrocite	Se transportă la laborator sângele integral	Hemocultură

*Vacuumurile* au un șir de avantaje, inclusiv:

- simplitate și inofensivitate;
- nivel înalt de securitate pentru personalul medical;
- permite respectarea strictă a raportului sânge-reagent; posibilitatea folosirii eprubetelor la analizele hematologice fără deschiderea capacelor, un lucru foarte important;
- posibilitatea folosirii suportului special de tipul „vacu-

drop” pentru prepararea frotiurilor;

- corespunderea cerințelor standardelor CE și ISO privind condițiile de sterilizare;

- adaptarea ideală a sistemului pentru aplicarea în practica pediatrică, etc.

*Tehnică.* Se inspectează ambele brațe pentru identificarea venelor accesibile. Locul de puncție: la adult sunt preferate vena mediană cubitală în fosa anticubitală (pot fi punctate și alte vene).

Se aplică garoul la 4-7 cm deasupra locului de puncție, recomandând pacientului să strângă ușor pumnul. Se dezinfectează pielea cu alcool și se lasă să se usuce, apoi se efectuează puncția.

*Recoltarea sângelui pe anticoagulant.* În cazul în care examenul sângelui nu se face imediat după colectare, se recomandă ca sângele să se recolteze pe un anticoagulant pentru probele de numărători și hemoglobină. Immediat după colectare se etichetează și se poziționează vertical eprubetele în stativ. Dacă eprubeta conține anticoagulant, se va roti de câteva ori imediat după colectare.

Acest sânge prezintă avantajul că permite dintr-o singură probă efectuarea unui mare număr de determinări hematologice și repetarea lor din aceeași probă în cazurile necesare. Probele pot fi efectuate la câteva ore de la recoltare, cu condiția că eprubeta este închisă ermetic și se păstrează la rece ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) și nu prezintă hemoliză (nu se recomandă păstrarea probei mai mult de 12 ore).

Este bine să se știe că nu există nici o diferență între rezultatele determinărilor pe sânge venos sau capilar, cu condiția că sângele venos să fie făcut incoagulabil. Pentru trimiterea probelor cu anticoagulant la distanțe mari se recomandă păstrarea lor, în timpul transportului, în condiții de izotermie, la  $+4$  sau  $4-8^{\circ}\text{C}$ .

*Puncția capilară* se aplică în cazurile când rețeaua venoasă superficială este prost reprezentată sau bolnavul refuză puncția venoasă din cauza anxietății.

Pentru recoltarea sângelui capilar se puncționează tegumentul degetului inelar sau mijlociu. La nou-născut, sugar și copilul mic se puncționează fața plantară a degetului mare de la picior, călcâiul sau scalp.

*Tehnica puncției capilare.* După dezinfectarea și degresarea regiunii respective și după evaporarea și uscarea alcoolului se punctează tegumentele cu stiletul de unică folosință rapid și suficient de adânc (2 mm). Trebuie ca sângele să apară de la sine sau după o slabă presiune. Prima picătură se șterge cu hârtie de filtru sau tifon și se așteaptă apariția următoarei picături. Nu se va atinge eprubeta colectoare de locul puncționat. Recoltarea trebuie să se facă rapid și corect și la sfârșit se aplică un tampon de vată cu alcool pe regiunea înțepată. Dacă fluxul este redus, se va evita stoarcerea regiunii înțepate pentru a nu dilua sângele cu limfă (nu se recomandă recoltarea sângelui în agitator).

*Măsuri de precauție pentru personalul medical:*

Fiecare contact direct cu secrețiile organismului trebuie considerat a fi potențial infectant; de aceea nu se vor atinge fără echipament de protecție produsele din sânge!

- Pentru a reduce riscul de transmitere a infecțiilor la personalul medical sau pacienți se vor folosi tehnici sterile și se vor purta mănuși de unică folosință, halate, măști, ochelari de protecție ș.a! Pot fi excepții de la folosirea mănușilor în situațiile în care purtarea lor ar împiedica palparea venelor în vederea puncției (ex. la nou-născuți sau obezi).

- Nu se vor îndoi, sparge sau scoate acele din seringă folosită fără a purta mănuși!

- Masca trebuie purtată corect, acoperind nasul și trebuie schimbată dacă se umezește!

- Instrumentele ascuțite (ex., ace, bisturie, foarfece) trebuie să fie manevrate cu prudență!

- Resturile biologice sau produsele cu risc de contaminare trebuie îndepărtate responsabil!

- Alte măsuri generale includ spălarea cu săpun antibacterian înainte și după contactul direct cu pacientul, înainte de intervențiile chirurgicale sau obstetricale, înainte și după endoscopie sau alte proceduri invazive, spălarea pe mâini imediat după scoa-

terea mănușilor, spălarea imediată și atentă a tegumentelor care au fost contaminate cu sânge sau alte produse cu risc.

## **2.2. Numărătoarea eritrocitelor**

### **2.2.1. Numărarea eritrocitelor la analizoare hematologice automate computerizate**

*Principiul* se bazează pe diferența conductibilității electrice a particulelor și lichidului în care acestea sunt suspendate. Elementele sângelui, nimerind în câmpul electric, modifică rezistența circuitului, ceea ce este înregistrat de contorul electric automat. Ceelele sunt clasate în funcție de dimensiuni și impendanză electrică.

*Utilaj:* analizor hematologic automat. Pregătirea reagenților și mersul determinării se efectuează conform instrucției la aparat.

### **2.2.2. Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat**

Este preferată metodă clasică de numărare a elementelor la microscop în camera Goreaev.

*Principiul.* Numărarea eritrocitelor la microscop într-o cantitate precisă de pătrățel a rețelei camerei cu recalcularea ulterioară la un litru de sânge în funcție de volumul pătrățelilor și gradul de diluție a sângelui (1).

*Reactivi:* Nr.1. Clorură de sodiu 0,9 % (este preferată).

Nr.2. Soluție Hayem:

Sublimat corosiv – 0,5 g,

Sulfat de sodiu – 5,0 g,

Clorură de sodiu – 1,0 g,

Apă distilată – până la 200 cm<sup>3</sup>.

*Utilaj:*

- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,020 ± 0,0002 cm<sup>3</sup>;
- microscop;
- camera de numărat Goreaev (Burker sau altele).

*Tehnica de lucru:* Într-o eprubeta curată, uscată se pipetează 4 cm<sup>3</sup> reactiv nr.1 sau nr.2. Se recoltează 20 mkl de sânge capilar sau venos. Se șterge atent vârful pipetei și se suflă sângele la fundul eprubetei; pipeta se clătește minuțios de 2-3 ori în stratul de sus al lichidului de diluție. Conținutul eprubetei se agită.

*Umplerea camerei de numărat.* Înainte de umplere camera de numărat și lamela se spală și se șterge până la uscat. Se aplică lamela pe lama celulei de numărat prin simplă păsuire. Este necesară o bună aderență între lamă și lamelă, care este asigurată când se formează inele Newton (inele colorate de refracție). Numai respectând aceste condiții se poate obține volumul și înălțimea stabilă a camerei de numărat. Înainte de umplere se agită de câteva ori conținutul eprubetei. Cu o baghetă de sticlă cu capătul rotunjit se ia o picătură de sânge din eprubetă. Bagheta se apropie de marginea camerei acoperită cu lamela și se lasă să între, prin capilaritate, în cameră, o cantitate de lichid în spațiul format între lamă și lamelă. Se introduce atâta lichid, încât spațiul dintre lamă și lamelă să fie umplut în întregime, fără ca lichidul să treacă în șanțurile laterale, fără ca lamela să se deplaseze, fără să între bule de aer în cameră; în caz contrar operația se repetă după ștergerea camerei. Se așteaptă o minută, pentru sedimentarea elementelor pe cadrilajul camerei. Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul x10 sau x15, în câmp întunecat (diafragma semiînchisă sau condensorul ușor lăsat în jos). Se numără eritrocitele în 5 pătrate mari conținând fiecare câte 16 pătrățele mici ( $5 \times 16 = 80$  pătrățele mici) situate pe diagonală, deoarece eritrocitele se pot distribui neuniform pe suprafața cadrilajului. Conform regulii, se numără eritrocitele din interiorul pătratelor mici, iar cele ce se află pe intersecții se numără numai pe două laturi - de sus și din stânga. Pentru a evita numărarea de două ori a aceluiași eritrocit, elementele situate pe intersecții pe latura de jos și din dreapta nu se numără.

Se recomandă numărătoarea eritrocitelor la 2-3 ore după recoltare. În cadrul anemiilor hemolitice și megaloblastice probele

trebuie efectuate imediat după recoltare, deoarece în aceste cazuri eritrocitele se distrug rapid.

*Calcularea rezultatelor.* Numărul eritrocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200 \cdot 10^6}{80}, \text{ unde:}$$

$X$  – numărul de eritrocite în 1 l de sânge;

$a$  – suma eritrocitelor numărate în 5 pătrate mari (80 mici);

4000 – înmulțitor, ce exprimă rezultatul într-un microlitru de sânge, fiindcă volumul unui pătrățel mic e de  $1/4000 \mu\text{l}$ ;

200 – diluția sângelui;

80 – numărul de pătrate mici numărate;

$10^6$  – numărul de microlitri în un l.

Practic, cifra de eritrocite găsită pe 80 pătrățele mici se înmulțește cu 10.000 și aflăm numărul de eritrocite în un l de sânge. Erorile metodei  $\pm 2,5\%$ .

*Erori în numărătoarea eritrocitelor:*

1. La recoltarea sângelui: întâmpătură superficială sau în regiuni puțin vascularizate; stoarcerea degetului, ceea ce conduce la diluția sângelui; erori de pipetare și diluare.

2. Formarea chiagurilor de sânge, care, reținând o parte de elemente, conduce la un rezultat micșorat de eritrocite.

3. Nerespectarea condițiilor, care asigură înălțimea corectă a camerei din cauza păsurii inerente a lamei de acoperire. De asemenea are importanță grosimea lamei de acoperire (ea trebuie să fie nu mai mică de 0,3 mm).

4. Numărarea inoportună a elementelor imediat după umplerea camerei, fără a aștepta 1 minută; în acest caz eritrocitele nu dovedesc să se sedimenteze pe cadrilajul camerei. Rezultatele obținute vor fi mai reduse.

5. Numărarea unui număr mai mic de pătrățele de pe cadrilajul camerei.

6. Spălarea defectuoasă a materialului folosit; utilizarea pipe-  
telor și eprubetelor umede.

7. Utilizarea reactivelor necalitativi pentru diluție ce poate  
cauza hemoliza eritrocitelor.

*Valori normale:* bărbați –  $4,0-5,0 \times 10^{12}$  pe litru;  
femei –  $3,9-4,7 \times 10^{12}$  pe litru .

*Notă:*

1. În anemii hemolitice și megaloblastice număratoarea eri-  
trocitelor se va face imediat după recoltarea sângelui, fiindcă la  
păstrare eritrocitele se hemolizează rapid.

2. Pentru obținerea unui rezultat mai exact se vor număra eri-  
troците în 2 camere diferite și se va calcula media aritmetică a re-  
zultatelor celor două numărători.

*Valoarea globulară.* Este raportul dintre cantitatea de hemo-  
globină din sânge și numărul de eritrocite. Ea ne orientează asupra  
încărcăturii cu hemoglobină a hematilor. Mai este numită și indi-  
ce de culoare sau de cromaticitate.

Se calculează împărțind valoarea hemoglobinei [(g/l) x 3] la  
valoarea primelor trei cifre din numărul de eritrocite pe litru (e/l):

$$VG = \frac{Hg \times 3}{\text{primele 3 cifre } e / l} \quad (1)$$

Valorile normale variază între 0,90 și 1,05. Între aceste limi-  
te, se numește și valoare normocromă; scăzută sub 0,90 – hipocro-  
mă, iar dacă este crescută peste 1,05 – hipercromă.

Valoarea globulară este un element prețios într-o hemogramă,  
deoarece indică încărcătura eritrocitelor cu hemoglobină (hiper-  
și hipocromia). Pentru evaluarea cantității de hemoglobină în eri-  
troците în prezent se recomandă calcularea conținutului mediu de  
Hb în eritrocite (MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin) după  
formula (2) :

$$MCH = \frac{Hg (g/e)}{\text{primele 3 cifre } e / l} \quad \text{unde (2)}$$



e/l – numărul de eritrocite pe litru.

Valori de referință – 27–31 pg (picograme).

### 2.2.3. Numărătoarea reticulocitelor la colorarea cu albastru brilant de crezil, azur I sau azur II direct pe lamă sau în eprubetă

**Reticulocitele** sunt hematii tinere, cu dimensiuni mai mari decât hematia obișnuită și au în interiorul lor o substanță reticulo-filamentoasă dispusă ca o rețea sau uneori numai punctiformă. Numărul reticulocitelor oferă posibilitatea aprecierii activității eritropoiezei. Valorile crescute în anemii arată un proces activ de regenerare a sângelui.

*Principiu.* Evidențierea substanței granulo-filamentoase din eritrocitele tinere prin colorații vitale în care sângele recoltat, proaspăt, fără să fie fixat, se pune în contact pe lamă sau în eprubetă cu coloranții alcalini. Numărătoarea reticulocitelor se face în frotiuri sanguine.

*Reactivi.* Poate fi folosit unul din coloranții următori:

1. Albastru brilant de crezil soluție saturată în alcool absolut (1,2 g colorant în 100 ml alcool).

2. Soluție de azur I :

- azur I – 1,0 g,
- NaCl – 0,8 g,
- oxalat de amoniu – 0,4 g,
- alcool etilic 96<sup>0</sup> – 10,0 ml,
- apă distilată – 90,0 ml.

Amestecul obținut în sticlute bine închise cu un dop rodat se introduce în termostat pe 2 – 3 zile la temperatura 37 °C, periodic sticluta se agită energic. Apoi colorantul se răcește la temperatura încăperii, se filtrează prin hârtie de filtru. Se păstrează în sticle întuncate.

3. Soluția azur II:

- azur II – 1,0 g,
- citrat de sodiu – 5,0 g,
- clorură de sodiu – 0,4 g,

- apă distilată - 45,0 ml.

Soluția obținută se lasă la  $37^{\circ}\text{C}$  pe 2 zile și se agită periodic.

Pentru a accelera dizolvarea colorantului, amestecul poate fi încălzit la un foc slab, evitând fierberea, timp de 15 - 20 minute. Se răcește până la temperatura camerei și se filtrează. Se păstrează într-un vas întunecat.

#### *Utilaj special:*

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200-1,000 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040-0,200 cm<sup>3</sup>;
- pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
- microscop.

#### *Tehnica colorației direct pe lamă.*

Se întinde un frotiu din una din soluțiile sus-numite pe o lamă bine degresată, uscată și încălzită, la flacăra spirtierei se usucă. Așa frotiuri pot fi preparate din timp în număr mare. Apoi pe această lamă se întinde o picătură de sânge ca pentru orice frotiu. Se pune în camera umedă pentru 3-5 minute, apoi se usucă la aer. Camera umedă poate fi o cutie Petri cu un sul de tifon umezit de jur-împrejur cu capac. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, iar substanța granulo-filamentoasă în albastru.

#### *Tehnica colorației în eprubetă.*

**Metoda I.** Într-o eprubetă 10x1,0 cm se pipetează 0,04 cm<sup>3</sup> soluție de lucru de albastru briliant crezil (se prepară ex tempore adăugând la o picătură de oxalat de potasiu de 1% 4 picături soluție de colorant) și se adaugă 0,04 cm<sup>3</sup> sânge. Amestecul se omogenează minuțios, dar foarte ușor. După un contact de 30 minute se întind frotiuri subțiri pe lamă, după omogenizarea sedimentului.

**Metoda II.** La 0,05 cm<sup>3</sup> colorant azur II se adaugă 0,2 cm<sup>3</sup> de sânge proaspăt. Amestecul se agită minuțios, dar ușor. Peste 20-30 minute se întind frotiuri subțiri. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, substanța granulo-filamentoasă - în albastru.

**Metoda III.** Într-o eprubetă se pipetează 0,3–0,5 cm<sup>3</sup> soluție colorant azur I și se picură cu pipeta Pancenkov 5–6 picături de sânge. Eprubeta se închide cu un dop din cauciuc, se agită ușor. După un contact de 1–1,5 ore sedimentul se omogenizează și se întind frotiuri subțiri.

Această colorație a reticulocitelor se numește „vitală”. Atât hematiile, cât și reticulocitele apar colorate în verde, numai că acestea din urmă au în interiorul lor substanța reticulo-filamentoasă colorată în albastru-închis.

Frotiurile se examinează cu obiectivul cu imersie indiferent de metoda de colorație. Se numără reticulocitele întâlnite la 1000 de eritrocite. Pentru ușurare numărării se aplică în diafragma ocularului o rondelă de hârtie cu o fereastră tăiată în pătrățel, pentru limitarea câmpului microscopic. La fiecare câmp microscopic se numără reticulocitele și globulele roșii și se însemnează pe o hârtie. Se schimbă mai multe câmpuri microscopice, din diverse puncte ale frotiului, până se ajunge la 1000 hematii. Numărul de reticulocite raportat la eritrocite poate fi exprimat în % sau ‰ (promile).

În mod normal numărul reticulocitelor variază între 0,2–1,2 % în medie 0,7 %. Pentru o mai mare precizie pot fi numărate reticulocitele întâlnite la 2000–3000 de eritrocite. Valorile crescute demonstrează că eritropoieza este eficientă. În prezent pentru colorarea supravitală a reticulocitelor pot fi utilizate truse de firmă.

## **2.3. Numărătoarea trombocitelor**

### **2.3.1. Numărătoarea trombocitelor prin metode directe în camere de numărat**

*Principiu.* Se bazează pe numărarea trombocitelor, diluate într-o proporție cunoscută și într-un volum cunoscut al camerei de numărat. Se folosește microscopul în contrast de fază.

*Reactivi. Soluție 1:*

1. Clorhidrat de cocaină – 3 g
2. Clorură de sodiu – 0,25 g

3. Furacilină - 0,025 g
4. Apă distilată - 100 cm<sup>3</sup>

*Soluție 2:*

Oxalat de amoniu 1%. Soluția se fierbe și se filtrează. Se păstrează la frigider.

*Utilaj special :*

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu 100 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200 - 1,000 cm<sup>3</sup>;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040 - 0,200 cm<sup>3</sup>;
- microscop;
- dispozitiv pentru a obține contrast de fază;
- cameră de numărat Goreaev;
- lampă de iluminare pentru microscop.

Obținerea efectului în contrast de fază se efectuează conform instrucțiunii anexate la dispozitiv.

*Tehnica de lucru.* Într-o eprubetă se pipetează 4 cm<sup>3</sup> soluție 1 sau 2. Se adaugă 0,02 cm<sup>3</sup> sânge recoltat din pulpa degetului. Se așteaptă 25-30 minute pentru liza eritrocitelor. Se agită bine conținutul eprubetei și se umple camera de numărat Goreaev, care se pune în camera umedă. Peste 5 minute se numără trombocitele în 25 pătrate mari.

*Calcularea rezultatelor.* Numărătoarea trombocitelor în 1 litru de sânge se face după formula :

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{400} \cdot 10^6, \text{ în care:}$$

*a* - numărul trombocitelor în 25 pătrate mari (400 pătrățele mici);

200 - diluția sângelui;

4000 - înmulțitor, ce exprimă rezultatul în 1 μl de sânge, fiindcă volumul unui pătrat mic este egal cu 1/4000 μl;

400 - numărul pătratelor mici numărate;

$10^6$  – numărul de  $\mu\text{l}$  în 1 litru.

Dacă simplificăm calculele, atunci numărul trombocitelor numărate în 400 patrăte mici se înmulțește cu 2000 și apoi cu  $10^6$ . În mod normal numărul trombocitelor variază la maturi de la  $150 \times 10^9$  până la  $400 \times 10^9$  / litru de sânge.

### 2.3.2. Numărătoarea trombocitelor în frotiu

*Principiu.* Metoda este bazată pe determinarea cantității de trombocite în frotiuri colorate la 1000 eritrocite.

*Reactivi :*

1. Sulfat de magneziu 14% ;
2. Soluție apoasă de EDTA 6%;

*Utilaj:*

1. Microscop;
2. Eprubete 10 cm x 1,0 cm;
3. Micropipete Pancenkov.

*Tehnica de lucru.* Cu capilarul Pancenkov se ia soluție de sulfat de magneziu 14% sau EDTA până la diviziunea «75» și se introduce într-o eprubetă de 10 cm x 1,0 cm. În aceeași eprubetă se adaugă sânge din capilarul Pancenkov, luat până la diviziunea «O». Conținutul eprubetei se agită și din amestec se pregătesc frotiuri subțiri, care se fixează și se vopsesc după metoda Romanovsk-Giemza.

*Calcularea rezultatelor.* Numărul de trombocite la 1000 eritrocite. Se socotește numărul de trombocite în 1 l de sânge, știind cantitatea absolută de eritrocite într-un l de sânge.

*Valori normale:* Într-un l l de sânge se conțin  $150 \times 10^9 - 400 \times 10^9$  de trombocite.

*Notă.* Atunci când se utilizează în calitate de stabilizator soluția de sulfat de magneziu durată de vopsire va constitui 2-3 ore, iar când se folosește EDTA numai 30-45 minute.

### 3.3. Numărătoarea leucocitelor în camera de număr

*Principiu.* Numărătoarea se efectuează la microscop după lizarea eritrocitelor în 100 pătrate mari și se recalculează la 1 litru de sânge în funcție de volumul pătratelor și diluția sângelui. Probele pot fi numărate nu mai târziu de 2–4 ore după recoltare.

*Reactivi.*

Soluție de acid acetic 3–5% colorată cu câteva picături de albastru de metilen de 1%.

*Utilaj:*

- microscop;
- camera Gorcaev;
- eprubete 10 cm x 1,0 cm.

*Tehnica de lucru.* Într-o eprubetă se introduce 0,4 cm<sup>3</sup> de acid acetic de 3–5%. Se recoltează sângele în pipeta capilară Sali de 0,02 cm<sup>3</sup> până la unica diviziune a pipetei. Se șterge exteriorul pipetei și se suflă sângele la fundul eprubetei. Se clătește pipeta de 2–3 ori cu lichidul de la suprafață. Se omogenează conținutul eprubetei și se umple camera de număr.

Umplerea camerei de număr: vezi numărătoarea de eritrocite.

Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul x10, lumină slabă și diafragma stabilită cu condensorul) și se numără leucocitele în 100 pătrate mari, ceea ce corespunde la 1600 pătrate mici. Pentru o mai mare precizie leucocitele se numără în toată camera în pătratele mari neseperate în mici începând cu unghiul superior din stânga a camerei.

*Calcularea rezultatelor.* Numărul leucocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 20}{1100} \cdot 10^9, \text{ unde:}$$

$x$  – numărul leucocitelor în 1 ml sânge

$a$  – suma leucocitelor numărate în 100 pătrate mari;

100 – numărul pătratelor mari;

20 – diluția sângelui;

250 – coeficient de recalculare la 1 ml, deoarece volumul unui pătrat mare – 1/250 mkl;

$10^9$  – numărul de microlitri, în 1 litru.

Mai simplu, numărul leucocitelor numărate se înmulțește cu 50 și cu  $10^6$ .

*Valori normale:* numărul leucocitelor variază la adulți de la  $4 \times 10^9$  / l până la  $9 \times 10^9$  / litru de sânge. La numărarea leucocitelor sunt inevitabile erori în 6 – 8% cazuri. La prezența în sângele periferic a globulelor roșii nucleate (eritrocariocite), ele nu sunt lizate și se numără împreună cu leucocitele. În aceste cazuri din cantitatea totală de celule (nuclee) numărate se scade numărul de elemente ale globulelor roșii. Aceasta se efectuează în corespundere cu procentul lor la calcularea formulei leucocitare.

Restul erorilor de determinare sunt descrise la numărarea eritrocitelor.

#### 2.4. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)

Reprezintă un examen de laborator foarte simplu ca recoltare și execuție. Este de o mare valoare clinică, deoarece, fiind un test nespecific, poate fi modificat de prezența oricărui tip de proces inflamator, necrotic sau autoimun, ce alternează structura proteinelor plasmatice. *Actualmente în RM se practică micrometoda Pancencov.*

*Principiu.* Sângele, fiind tratat cu un anticoagulant și lăsat în repaus, se desparte în 2 straturi: superior – plasma, inferior – hematiile (eritrocitele). Eritrocitele se sedimentează după un timp variabil depinzând de proprietățile fizice și chimice ale sângelui.

*Reactivi.*

1. 1. Soluție citrat trisodic de 5%. Soluția se filtrează. Are un pH neutru sau slab alcalin.

Reactivul nu este stabil.

*Utilaj:*

1. Eprubete de 10 cm x 1,0 cm.

2. Aparat Pancenkov constituit din stativ în partea inferioară a căruia sunt dopuri de cauciuc pentru fixarea pipetelor speciale cu diametrul intern de 1 mm. Pipetele au diviziuni milimetrice de la «0» până la «100» (10 cm). Peste fiecare 10 diviziuni sunt notate cifrele 10, 20, 30 etc. până la 100. Diviziunea «0» este completată de litera K (sânge), iar diviziunea 50 de litera P (reactiv). Pipetele și eprubetele trebuie să fie curate (spălate cu soluție de bicarbonat și uscate).

*Tehnica de lucru.* În pipeta capilară gradată (Pancenkov) în prealabil spălată cu sol. citrat trisodic se aspiră acest reactiv până la diviziunea 50 «P» și se suflă într-o eprubetă. Se aspiră imediat cu aceeași pipetă sânge până la diviziunea «0» de 2 ori și se adaugă în aceeași eprubetă. Se amestecă. Se aspiră amestecul în pipeta Pancenkov până la diviziunea «0», apoi se astupă cu degetul arătător partea de sus pentru a opri pe loc coloana de sânge. Vârful pipetei se aplică pe dopul de cauciuc de la partea inferioară a stativului, iar capătul superior al pipetei se fixează în partea de sus a stativului. Pipeta trebuie să fie în poziție perfect verticală. Se notează ora. Rezultatul se citește peste o oră. Se exprimă în milimetri pe oră.

*Valori normale la adulți:*

bărbați – 1–10 mm/oră;

femei – 2–15 mm/oră.

*Variații fiziologice:* La femei, în timpul menstruației viteza crește; valori crescute se întâlnesc în sarcină, mai ales în ultimele luni; la copii viteza este ceva mai mare decât la adulți.

*Surse de erori:*

1. nerespectarea raportului 1:4 între reactiv și sânge;
2. coagularea sângelui, dacă nu va fi bine omogenizat;
3. poziția capilarului trebuie să fie verticală, în tuburi înclinate viteza de sedimentare crește;
4. temperatura mediului mai mare de 20°C grăbește sedimentarea, mai mică de 20°C – o încetinește; între 20 și 27°C variațiile sunt de mică importanță și determinarea se poate face la t° camerei. În alte condiții de temperatură cu variații mari se recomandă



ca stativul cu tubul să se introducă în termostat cu temperatura constantă de 20 °C;

5. în cazul bolnavilor cu crioglobulinemie, VSH efectuat la t° camerei poate să dea erori mari, datorită împiedicării sedimentării eritrocitelor prin gelificarea plasmei simulând viteze normale sau ușor crescute. În astfel de împrejurări stativul cu tubul de VSH trebuie menținut la termostat de 37 °C care prin împiedicarea crio-precipitării dă valorile reale în astfel de cazuri. Determinarea trebuie să se facă imediat după recoltarea sângelui, orice întârziere poate să scadă VSH-ul;

6. transportarea sângelui cu citrat dintr-o încăpere în altă la temperatura mai joasă de 0 °C se efectuează în învelișuri de vată;

7. interval prea mare între recoltare și efectuarea examenului.

Actualmente Comitetul internațional pentru standardizare în hematologie (ICSH) recomandă metoda Westergreen cu utilizarea pipetei Westergreen de 300 mm gradată de la 0 - 200 în mm. Recoltarea sângelui și execuția probelor în ambele metode este similară.

În prezent se practică pipete-capilare pentru examinarea VSH cu filtru și utilaje speciale de firmă pentru automatizarea și accelerarea dozajului.

## **2.5. Rezistența osmotică a eritrocitelor (rezistența globulară)**

*Principiu.* Măsurarea gradului de hemoliză a eritrocitelor în soluții tampon hipotonice de NaCl. Este un test specific în investigarea anemiilor hemolitice pentru evaluarea însușirilor fizico-chimice ale membranelor eritrocitelor. Membrana eritrocitelor este total permeabilă pentru apă și numai parțial pentru săruri. În soluțiile hipertone se produce o reducere în dimensiuni și zbârcire a eritrocitelor drept urmare a pierderii apei, iar în cele hipotone o umflare a acestora care conduce la hemoliză.

*Reactivi:*

1. Soluție stock (care după presiunea osmotică corespunde cu cea a soluției de NaCl de 10%); pH - 7,4,

Componenta soluției:

a) dihidrofosfat de sodiu ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )-27,31 g sau ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 34,23 g);

b) monohidrofosfat de sodiu ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) - 4,86 g;

c)  $\text{NaCl}$  - 180 g;

d)  $\text{H}_2\text{O}$  distilată - până la 2 l, pH - 7,4.

Soluția stock se diluează de 10 ori. Se obține o soluție ce corespunde concentrației osmotice a soluției de  $\text{NaCl}$  de 1% din care apoi se pregătesc mai multe diluții: 0,85%; 0,70%; 0,65%; 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%; 0,20%; 0,1%  $\text{NaCl}$ . Se poate de pregătit câte 100  $\text{cm}^3$  soluție de lucru cu concentrații diferite care pot fi păstrate timp de 2 săptămâni la frigider.

*Utilaj special:*

- eprubete cu dimensiunile 10 cm x 1 cm.
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100  $\text{cm}^3$ ;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200-1,000  $\text{cm}^3$ ;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040-0,200  $\text{cm}^3$ ;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,005-0,040  $\text{cm}^3$ ;
- pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
- microscop;
- fotoelectrocolorimetru;
- termostat la 37°C;

*Tehnica de lucru.* În 2 eprubete sterile ce conțin câte 2 picături de heparină, se adaugă câte 1,5  $\text{cm}^3$  sânge. O eprubetă se pune în termostat pe 24 ore, alta se folosește în aceeași zi a colectării sângelui. Într-o serie din 14 eprubete se toarnă câte 5,0  $\text{cm}^3$  soluție de lucru cu concentrațiile de la 1,0% până la 0,1%. În fiecare eprubetă se adaugă câte 0,02  $\text{cm}^3$  sânge heparinizat, se agită bine și se lasă nu mai puțin de 30 min la temperatura camerei (25°C). Se centrifughează 5 min la 2000 tur/min. Se transferă supernatantul în alte eprubete, care mai apoi se măsoară la fotoelectrocolorimetru la 500-560 nm (filtru verde) în cuve de 10 mm față de proba martor.

Proba martor este supernatantul eprubetei ce conține 1% soluție  $\text{NaCl}$ .

**Calcularea rezultatelor.** În calitate de hemoliză de 100% se ia eprubeta ce conține soluție 0,1% NaCl. Apoi se compară absorbția soluției cu hemoliză de 100% cu celelalte eprubete și se calculează procentul de hemoliză în fiecare eprubetă după formula:

$$\text{Procentul de hemoliză} = \frac{E_x \cdot 100}{E_l}, \text{ unde:}$$

$E_l$  – absorbția supernatantului din eprubeta ce conține 0,1% soluție NaCl;

$E_x$  – absorbția probei de examinat;

100 – procentul hemolizei în eprubeta ce conține 0,1% soluție NaCl.

**Valori de referință:** la persoanele practic sănătoase în sângele proaspăt recoltat începutul hemolizei se înregistrează la concentrația soluției de NaCl 0,5 – 0,45% (rezistența minimă) și hemoliza totală la 0,40 – 0,35% (rezistența maximă).

În ziua următoare, proba se repetă cu sângele incubat 24 ore la 37°C.

**Notă:** Se determină rezistența osmotică în sângele incubat, deoarece în unele cazuri de anemii hemolitice rezistența osmotică joasă poate fi depistată numai în sângele incubat. Tehnica de laborator trebuie efectuată cu multă atenție!

## 2.6. Analiza morfologică a elementelor figurate ale sângelui și calculul diferențiat al formulei leucocitare

**Principiu.** Examenul microscopic al frotiurilor sanguine uscate, fixate și vopsite cu descrierea morfologică eritrocitelor și numărarea diferențiată a leucocitelor cu calcularea raportului lor procentual.

O condiție importantă pentru studierea precisă a particularităților morfologice ale celulelor sanguine prezintă prepararea corectă a frotiului și colorarea lui calitativă.

**Etapele metodice:**

1. **Prepararea lamelor din sticlă.** Lamele din sticlă trebuie să fie curate și degresate. Pentru aceasta lamele se prelucurează în soluție de detergent 2%. La 20 g de detergent se adaugă 975 g apă +

20 cm<sup>3</sup> perhidrol într-un vas emailat pe 8–10 ore, frotiul sangvin vechi se șterge cu un tampon de vată și se fierbe nu mai mult de 5–10 minute în aceeași soluție cu detergent + perhidrol pregătită în prealabil. Fierberea mai mult de 10 minute sau într-un vas de aluminiu conduce la opacitatea lamelor.

Apoi lamele se spală în apă curgătoare, se șterg până la uscare și selectiv se verifică calitatea înlăturării soluției cu detergent cu ajutorul soluției alcoolice de fenolfaleină 1,0 g/l, pentru ce se aplică 2–3 picături soluție pe lamă (culoarea roz nu trebuie să apară). Lamele spălate se introduc în amestecul Nikiforov (alcool etilic 96<sup>0</sup> și eter dietilic în raport de 1:1) și se păstrează într-un vas curat cu capac.

2. *Fixarea frotiului-amprentă.* Înainte de colorare frotiul sanguin trebuie fixat. Fixarea are scopul de a denatura proteinele din celule și păstrarea structurii supravitale a lor. Pentru fixarea frotiurilor pot fi utilizate: alcool metilic (5–10 min); acetonă (5 min); alcool etilic absolut (20–30 min). La colorarea după Rait și Leișman frotiurile nu se fixează, deoarece vopseaua are în componența sa alcool metilic. Pentru fixare frotiurile pot fi acoperite cu sau cufundate în cuveta cu fixator.

*Reactivi:* alcool metilic sau soluție alcoolică eozin de metilen albastru May-Grünvald. În lipsa acestor fixatori, frotiile-amprentă se expun 35 minute în alcool etilic de 96<sup>0</sup>.

*Echipament:* pensă, suport pentru uscarea frotiilor-amprentă, borcan cu dop șlefuit.

*Fixarea.* Frotiile-amprentă uscate la aer se introduc în borcan cu fixator pe 5–10 minute. Apoi se scot din vas cu ajutorul pensei și se usucă la aer. Pentru fixare se aleg frotiile-amprentă corect preparate: frotiul trebuie să aibă o culoare gălbuie, în lățime să fie amplasat la o distanță de 1–3 mm de la marginea lamei și să se termine în lungime cu o «măturiță», neajungând cu 1,5–2 cm până la capătul lamei.

3. *Vopsirea frotiului-amprentă.* Pentru a colora preparatul se folosește un colorant alcătuit din două componente – acidă (eozină) și bazică (albastru de metilen și derivații săi – azur I sau azur II).

Pentru descrierea corectă a morfologiei celulelor sanguine colorarea frotiurilor ca și prepararea lor are o importanță deosebită.

Prima încercare de a colora frotiurile sanguine a fost a lui Ehrlich (1880) cu așa-numitul „amestec triacidic” care însă a eșuat.

Romanovski D.(1981) a propus metoda de colorare a frotiurilor sanguine, care sub diferite modificări se utilizează și în prezent. Colorantul lui Romanovski conținea soluție albastru de metilen și eozină. S-a stabilit însă că vopseaua proaspăt pregătită colorază celulele într-un fel, iar vopseaua păstrată – în alt fel, deoarece în timpul păstrării acești doi componenți formează o altă substanță – azur – cu unele noi însușiri pentru colorare. Se consideră că cea mai reușită modificare a vopselei a fost propusă de Giemsa în 1902. El este compus din două componente – partea alcalină (azur II sau azur de metilen), care colorează componentii acizi ai celulei: acidul ribonucleic, dezoxiribonucleic (se conțin preponderent în nucleu) în roșu –violet-intens (de la albastru-întunecat până la violet), așa-numită bazofilic. Al doilea component, partea acidă – cozina, se fixează pe componentele alcaline ale celulei (proteinele) în roșu spre roz – eozinofilic. Granulațiile și precipitațiile intracelulare se colorează diferit în funcție de reacția lor.

Colorantul ce conține azur-eozină posedă o sensibilitate înaltă la pH-ul apei. Apa pentru prepararea frotiurilor și spălare trebuie să aibă un pHI neutru. În cazul când reacția colorantului este acidă, celulele mult timp nu se colorează și au o nuanță roșietică, în cazul reacției bazice – eritrocitele se vopsesc într-o culoare gri-albastră, iar nucleul și citoplasma leucocitelor – în culori foarte întunecate.

În practica curentă pentru colorarea frotiurilor se aplică modificările Noht și Pappenheim.

a) Colorația Noht.

*Reactivi:*

a) sol. stock azur II 1 g/l : 1,0 g azur II se dizolvă în 1000 cm<sup>3</sup> de apă distilată;

b) sol. stock eozină K, 1,0 g/l : 1,0 g de eozină K se dizolvă în 1000 cm<sup>3</sup> apă distilată.

Soluțiile stock sunt bune pentru folosire după 14 zile de păstrare la temperatura camerei în veselă din sticlă brună cu dop rodat.

1. Soluție tampon fosfat ( amestecul Veize), pH 7,4 7,5;

– fosfat monopotasic ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,49 g ;

– fosfat disodic dihidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 1,14 g sau fosfat disodic anhidru ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,909 g;

– apa distilată – 1000  $\text{cm}^3$ .

2. Soluția de lucru: se pregătește *ex tempore* un amestec din 25  $\text{cm}^3$  soluție stock azur II, 20  $\text{cm}^3$  soluție stock eozină K și 55  $\text{cm}^3$  soluție tampon fosfat. Proporțiile de coloranți pot să varieze, acestea fiind stabilite experimental, când se prepară soluții proaspete de colorant.

*Vopsirea frotiurilor.* Frotiurile-amprentă fixate se introduc într-un container-suport special, ultimul se afundă într-o cuvă cu soluție de colorant și se lasă un timp strict limitat de la 20 până la 50 minute. Containerul se transferă în altă cuvă cu apă de robinet, apoi frotiurile se așează vertical la uscat pe un suport. Dacă lipsește containerul-suport, atunci frotiurile după fixare și uscare se vopsesc fiind plasate pe așa-numitele "șine" – construcție formată din două pipete de sticlă unite între ele cu tuburi de cauciuc. În acest caz frotiurile se acoperă cu un strat gros (3-4  $\text{cm}^3$ ) de soluție de colorant.

b) Colorația Pappenheim.

*Reactivi:*

1. Soluție de eozină metilen albastru May-Grünvald. Dacă soluția aceasta lipsește, atunci se prepară 5 g/l soluție, diluând 5 g colorant May-Grünvald praf uscat în 1000  $\text{cm}^3$  alcool metilic. Soluția este bună de lucru după 4 zile de păstrare la temperatura camerei.

2. Colorantul azur-eozină Noht.

*Vopsirea frotiurilor.* Frotiurile uscate, nefixate se introduc în container, care apoi se afundă pe 5 min într-o cuvă cu soluție colorant May-Grünvald. Apoi containerul cu frotiuri se spală într-o cuvă cu apă distilată. În continuare containerul cu frotiuri se transferă într-o cuvă cu soluție de lucru eozină-azur (după Noht) pentru

8-15 minute. Se spală colorantul, transferând containerul într-o cuvă cu apă de robinet. Frotiurile se usucă la aer.

## 2.7. Examenul microscopic

*Reactivi:*

1. Ulei de imersie.
2. Fter dietilic sau alcool etilic.

*Echipament.* Microscop, contor pentru citirea formulei leucocitare.

*Tehnica de lucru.* La început se examinează frotiul de sânge la microscop (obiectivul – 10x, ocular 7x). Numărarea formulei leucocitare și aprecierea morfologică a eritrocitelor se efectuează numai în partea subțire a frotiului amprentă, unde eritrocitele sunt așezate solitar, dar nu sub formă de "monete în stâlpișor". Apoi la marginea frotiului se aplică o picătură de ulei de imersie și se stabilește obiectivul cu imersie (dacă dispunem de un microscop monocular, atunci e mai comod de folosit ocularul 7x, la cel binocular – ocularul 5x). Numărarea leucocitelor se face deplasând obiectivul cu 2-3 câmpuri de vedere de la marginea frotiului și mișcând frotiul sub formă de zigzag ( linia "Meandru" ): 3-5 câmpuri de vedere de-a lungul frotiului, apoi 3-5 câmpuri de vedere sub un unghi drept spre mijlocul frotiului, apoi 3-5 câmpuri de vedere paralel cu marginea frotiului și din nou sub un unghi de 90° 3-5 câmpuri de vedere spre marginea frotiului. Astfel de mișcări vor fi efectuate până nu va fi calculată jumătate din numărul de celule și după aceea se trece în partea opusă a frotiului și se numără altă jumătate din celule.

*Determinarea rezultatelor.* Se numără numai celulele integre. În normă se depistează următoarele forme de leucocite: bazofile, eozinofile, neutrofile cu nucleu nesegmentat, neutrofile cu nucleu segmentat, monocite și limfocite. Atunci când în frotiu se depistează plasmocite, forme imature, tinere sau celule blastice, celule dificil de diferențiat, acestea trebuie să fie incluse în formula leucocitară, iar morfologia lor trebuie să fie descrisă detaliat. Paralel

cu numărarea formulei leucocitare se evaluează morfologia eritrocitelor, acordând atenție anomaliilor de talie (normocite, microcite, macrocite, megalocite), anomaliilor de formă (platicite sau leptocite, ovalocite, microsferocite, celule în țintă, drepanocite-eritrocite falciforme), anomalii de colorabilitate (anizocromie, eritrocite normocrome, hipocrome, hiperchrome, policromatofile), la prezența și gradul de exprimare a anizocitozei și poikilocitozei, prezența corpusculilor intraeritrocitari (punctații bazofile, corpusculi Jolly, corpusculi Heinz, inele Cabot, pulbere cromatiniană-granulații eritrocitare azurofile).

Dacă la analiza sângelui nu au fost depistate devieri cantitative în componența elementelor figurate ale sângelui, iar la numărarea primelor 100 de leucocite nu au fost depistate careva modificări în formula leucocitară sau morfologia eritrocitelor, atunci analiza formulei leucocitare se va limita cu numărarea a 100 leucocite. Atunci când vor fi depistate devieri de la valorile normale, va fi necesar de a număra nu mai puțin de 200 leucocite.

Formula leucocitară exprimă conținutul diferitor tipuri de leucocite în procente relative. Date mai precise poate oferi calcularea valorilor absolute, deci a conținutului fiecărui tip de leucocite într-un volum de sânge.

*Valorile de referință:*

*Tabelul 2.1*

**Formula leucocitară la persoanele adulte practic sănătoase**

Tipurile de leucocite	Conținutul în %	Numărul de celule la 1 litru sânge
Bazofile	0-1	$0 - 0,065 \times 10^9$
Eozinofile	0,5-5	$0,020 \times 10^9 - 0,300 \times 10^9$
Neutrofile nesegmentate	1-4	$0,040 \times 10^9 - 0,300 \times 10^9$
Neutrofile segmentate	47-72	$2,000 \times 10^9 - 5,500 \times 10^9$
Monocite	3-11	$0,090 \times 10^9 - 0,600 \times 10^9$
Linfocite	19-37	$1,200 \times 10^9 - 3,000 \times 10^9$

Particularitățile de vârstă ale formulei leucocitare la copii au fost expuse în capitolul 1.



## **Capitolul III**

### **STUDIUL MORFOLOGIC AL ELEMENTELOR FIGURATE ALE SÂNGELUI**

#### **3.1 Studiul seriei eritrocitare**

Dintre toate tipurile de celule ale sângelui eritrocitele sunt cele mai numeroase, cantitatea lor depășește numărul leucocitelor în 1000 ori, iar al trombocitelor de 100 ori. Sistemul hematopoietic la adulți realizează un echilibru între rata de distrugere fiziologică a eritrocitelor mature și ritmul de eliberare în circulație a celulelor nou-formate. Procesul de reproducere a eritrocitelor este numit eritropoieză și are loc în măduva osoasă. La adulți măduva hematopoietică este localizată în coaste, vertebre, stern, scapulă, oasele coxale și epifizele oaselor tubulare, care generează  $200 \times 10^9$  celule timp de 24 ore, 460 kg timp de 70 ani. Durata vieții eritrocitelor este de aproximativ 120 zile. Pierderea eritrocitelor are loc pe două căi:

- 1) apoptoză (durata programată a vieții și celulei);
- 2) hemoliză – sub influența diferitor factori patogeni.

Nouformarea eritrocitelor (eritrocitopoieza) asemenea celorlalte celule sanguine se diferențiază și se maturizează din celulele stem (șușă) hematopoietice primitive, pluripotente sub influența reglatoare a eritropoietinei (*fig.3.1*). Aceste celule nu pot fi recunoscute morfologic. Celulele stem treptat se maturizează în celulele recunoscute morfologic pe frotiu - precursori identificați morfologic.

De menționat că până în prezent la noi în țară și peste hotare nu există o terminologie unificată pentru denumirea celulelor morfologic identificabile din schema de diferențiere și maturare a eritrocitelor, deci a eritropoiezei.

Există trei variante de descriere a terminologiei celulelor eritropoiezei normale:

I – proeritroblastul, eritroblastul bazofil, eritroblastul policromatofil, eritroblastul oxifil, reticulocitul, eritrocitul;

II – eritroblastul, pronormoblastul, normoblastul bazofil, normoblastul policromatofil, normoblastul oxifil, reticulocitul, normocitul;

III – eritroblastul, pronormocitul, normocitul bazofil, policromatofil, oxifil, reticulocitul, eritrocitul\*.

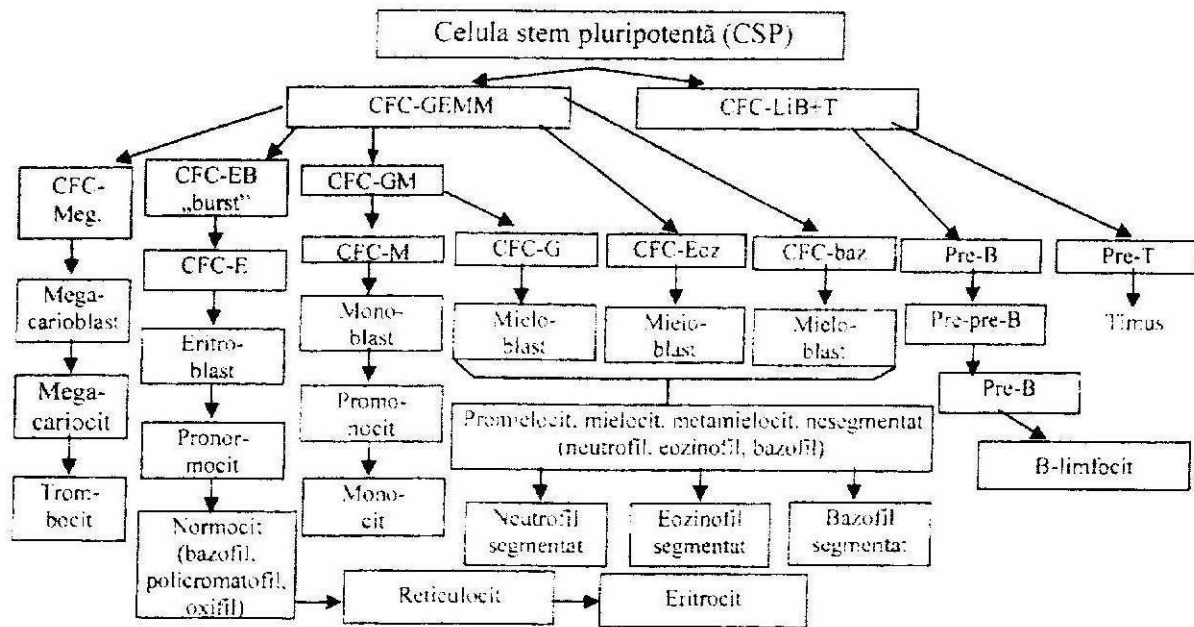
*Notă:* \* - Ultima variantă este mai reușită, deoarece este în unison cu nomenclatura celorlalte celule, în primul rând cu cele granulocitare.

Diferențierea celulelor are loc în etape succesive, care pot fi identificate pe criterii morfologice, ajungând în final în stadiul de reticulocit, care părăsește măduva osoasă și trece în sângele periferic.

În cursul procesului de maturare a acestor celule se produc următoarele transformări:

1. reducerea dimensiunilor nucleului și celulei;
2. creșterea cantității de cromatină nucleară condensată (bazicromatină, masă compactă);
3. creșterea în citoplasmă a conținutului de hemoglobină și intensității colorației roz al acesteia pe frotiuri.

# SCHEMA HEMATOPOIEZEI



**Fig. 1.** CSP – celula stem pluripotentă; CFC-GEMM – celula formatoare de colonii mieloidă; CFC-LiB+T – celula formatoare de colonii limfoidă; CFC-GM – celula formatoare de colonii granulocitare-monocitare; CFC-M – celula formatoare de colonii monocitare; CFC-G – celula formatoare de colonii granulocitare; CFC-EB – celula formatoare de colonii eritroide „burst”; CFC-E – celula formatoare de colonii eritroide; CFC-Meg – celula formatoare de colonii megacariocitare.

### 3.1.1 Morfologia seriei eritrocitare normale – precursorii identificați morfologic

**Eritroblastul** este celula precursoră de serie, cu dimensiunile de 20-25  $\mu\text{m}$ , rotundă. Nucleul este rotund, voluminos, 80% din celulă; cromatina are structură reticulară uniformă, la întretăierea benzilor de cromatină culoarea fiind mai intensă, în ansamblu, nucleul este de culoare violetă, purpurie-închisă și are 1-3 nucleoli, puțin distincți. Citoplasma este redusă la o bandă subțire, intens bazofilă, albastru foarte închis, fără granulații. Aceasta prezintă uneori o mică prelungire rotunjită într-o singură parte. Aspectul citoplasmei nu este omogen, ea prezintă părți incolore, în jurul nucleului există un cerc cromofob, foarte subțire.

**Pronormocitul** este celulă de talie mai mică, 16-18  $\mu\text{m}$ , dimensiunile nucleului sunt mai reduse, în favoarea citoplasmei, care este mai abundentă. Nucleul are culoarea violetă-purpurie-închisă, nucleolii lipsesc. Citoplasma este bazofilă, dar ceva mai deschisă, relativ mai omogenă decât a eritroblastului, și reprezintă o zonă cromofobă perinucleară mai pronunțată.

**Normocitul bazofil** e celulă de talie mai mică, 16-18  $\mu\text{m}$ , dimensiunile nucleului sunt mai reduse, în favoarea citoplasmei, care este mai abundentă. Nucleul are bazicromatina grosolan dispusă, în grămezi colorate intens în violet-negru. Grămezile iau o formă pentagonală sau hexagonală, cu dimensiuni care ating uneori 2  $\mu\text{m}$ . Oxicromatina dispusă între grămezi este de culoare roz-deschis. Foarte caracteristică pentru nucleul de normocit bazofil este prezența de oxicromatină dispusă radiar în cerc la periferia nucleului, în « spițe de roată ». Citoplasmă este bazofilă.

**Normocitul policromatofil.** Se caracterizează prin acumularea hemoglobinei în citoplasmă. Celula este rotundă, cu diametrul de aproximativ 10-14  $\mu\text{m}$ , cu nucleul cu atât mai redus, cu cât celula este mai evoluată și cu cromatină nucleară în grămezi groase, dispuse în așa fel încât oxicromatina își păstrează desenul în „spițe de roată”. Raportul **nucleo-citoplasmatic** diminuează volumul nucleului ajungând de aproximativ 25%, nucleolii lipsesc.

Citoplasma în funcție de acumularea hemoglobinei variază de la albastru-violaceu la roz-cenușiu.

**Normocitul oxifil.** Celula are forma rotundă, de dimensiuni aproape egale cu ale eritrocitului, 8-9  $\mu\text{m}$ . Nucleul este mic cu cromatina condensată și citoplasma roz acidofilă asemănătoare cu a eritrocitelor. Nucleul dispare prin expulzie sau prin carioliză și celula devine un reticulocit medular.

**Reticulocitul** reprezintă un eritrocit tânăr care își păstrează încă mitocondriile și resturi de ARN. Această substanță se pune în evidență prin colorații supravitale cu albastru-crezil-brilant, având un aspect granular și este denumită substanță granulo-filamentoasă. Substanța granulo-filamentoasă apare din stadiul de normocit acidofil în jurul nucleului, încă înainte de dispariția acesteia. În cursul procesului de maturare a reticulocitelor cantitatea acestei substanțe scade treptat.

Reticulocitele formate în măduvă din normocitul oxifil continuă, procesul de maturare durează încă 1-2 zile, apoi intră în torrentul circulator și rămân în acest stadiu de reticulocit încă 1-2 zile, după ce devin eritrocite mature.

În funcție de dezvoltarea rețelei de substanță granulo-filamentoasă se pot distinge 5 tipuri de reticulocite:

Tipul O: rețea perinucleară (în normocitul acidofil).

Tipul I: rețea în ghem strâns (în locul nucleului).

Tipul II: rețea laxă (ocupă toată celula).

Tipul III: rețea fragmentată.

Tipul IV: resturi de substanță, sub formă de 2-3 puncte izolate.

În mod normal tipul O, I și II se găsesc numai în măduvă; celulele, tipul III și IV, pot fi găsite atât în măduvă, cât și în sângele periferic, unde se maturează în eritrocit, ce se caracterizează morfologic prin pierderea substanței granulo-filamentoase și micșorarea volumului.

Eritrocitul este o celulă discoidală și biconcavă, de culoare roz-intensă (acidofil) la colorația panoptică, centrul celulei fiind mai puțin colorat (depresiune centrală). Diametrul eritrocitului va-

riază între 7 și 8  $\mu\text{m}$ . Este o celulă lipsită de nucleu; citoplasmă sa conține o concentrație mare de hemoglobină.

Cercetările efectuate cu tehnici multiple au stabilit că durata de viață a eritrocitelor este, la individul normal, în medie de 120 de zile.

Pe baza caracterelor morfologice, precursorii eritrocitari din măduva osoasă normală sunt denumiți eritrocariocite, iar procesul de formare a hematiilor adulte – eritropoieză normoblastică. Eritrocitele își exercită funcția în sângele periferic, principala fiind transportul de  $\text{O}_2$  și  $\text{CO}_2$ .

### 3.1.2 Modificările indicilor eritrocitari în stările patologice

Prin examinarea de laborator a globulelor roșii din sângele periferic pot fi obținute date importante despre modificările numărului lor, nivelului de hemoglobină, dimensiunii, formei și unele caracteristici morfologice ale structurii celulare. Unii indici eritrocitari pot fi calculați pe baza valorilor RBC – numărul de eritrocite; HGB – cantitatea de hemoglobină în sângele periferic; și HCT – hematocritul, care raportează înălțimea coloanei de eritrocite obținute după centrifugare la volumul sângelui total. Informații mai vaste despre indicii eritrocitari pot fi oferite de analizatorul automat.

*Indicii eritrocitari care pot fi calculați prin formule în baza indicilor de rutină:*

1) *Volumul eritocitar mediu* (MCV-mean capsular volum) =  $[\text{hematocritul (\%)} \times 10] : \text{RBC (numărul de eritrocite în milioane/mm}^3\text{)}$ . Valori normale 80-95 fl (femtolitri).

2) *Hemoglobina eritocitară medie* (MCH-mean cell hemoglobin) =  $\text{HGB (g/l)} : \text{RBC (x } 10^{12} / \text{l)}$ . Valori normale 27-31 pg (pictograme).

3) *Concentrația eritocitară medie de hemoglobină* (MCHC-mean cell hemoglobin concentration) =  $[\text{HGB (g/dl)} \times 100] : \text{HCT (\%)}$ . Valori normale 32-36 g/dl, sau 32 – 36%.

### 3.1.2.1 Modificările numărului de eritrocite

Valorile eritrocitelor pot varia în funcție de poziția pacientului în momentul recoltării (pot fi mărite în poziția orizontală), activitatea fizică și stările de stres, gradul de hidratare a organismului, precum și timpul colectării (dimineața sau seara). Devierile pot atinge  $\pm 0,5 \times 10^{12} / l$ .

În patologie predomină nivele scăzute ale numărului de eritrocite – eritrocitopenie. Stările când micșorarea numărului de eritrocite este asociat de scăderea valorilor hemoglobinei poartă denumirea de *anemie*. Deoarece hemoglobina în mod normal se conține doar în eritrocite, scăderea lor merge de obicei paralel, însă nu totdeauna la același nivel.

De menționat că la indivizi sănătoși există o strânsă corelație între hemoglobină, hematii și hematocrit, care se poate deregla în patologie.

Sunt considerate următoarele criterii pentru diagnosticarea anemiei:

- la bărbați: eritrocitele  $< 4,0 \times 10^{12} / l$ , Hb  $< 130 \text{ g/l}$ , Ht  $< 40\%$ ;
- la femei: eritrocitele  $< 3,8 \times 10^{12} / l$ , Hb  $< 120 \text{ g/l}$ , Ht  $< 36\%$ .

Există multe forme de anemie care necesită un tratament concret pentru fiecare din ele. La prima etapă a procesului de diagnosticare scopul principal constă în determinarea variantei patogenetice a anemiei, deci a mecanismului principal, care stă la baza scăderii valorilor de eritrocite și hemoglobină, a cauzei anemiei la pacientul concret. Aceste date pot fi obținute doar în baza rezultatelor examinărilor de laborator.

Mecanismele principale ale anemiei sunt următoarele:

1. pierderea de sânge (acută sau cronică);
2. reducerea procesului de formare a eritrocitelor și hemoglobinei (deficit de fier, vitamina B<sub>12</sub>, acid folic, etc.);
3. scăderea duratei de viață a hematiilor (defecte congenitale și dobândite ale structurii membranei eritrocitare, enzimelor intraeritrocitare și sintezei hemoglobinei).

În baza acestor mecanisme deosebim 3 grupe de anemii:

1. anemiile deficitare: feriprivă, megaloblastică (deficit de vitamina B<sub>12</sub> și acid folic);
2. anemiile hemolitice, dobândite și ereditare;
3. anemiile posthemoragice.

Pentru uz practic este preferată clasificarea patogenetică, deoarece această clasificare, completată cu alte teste de laborator, permite de a evidenția mecanismele de dezvoltare a anemiei și aplicarea unui tratament specific.

Eritrocitoza prezintă creșterea valorilor de eritrocite și hemoglobină într-o unitate de volum al sângelui (1 litru). Valoarea hematocritului depinde de volumul eritocitar și prin urmare reprezintă un indice veritabil al policitemiei, fiind în aceste cazuri la bărbați mai mare de 52% și la femei de 47%. Eritrocitoza poate apărea fie prin creșterea totală a volumului de hematii în circulație *eritrocitoză absolută*, fie prin scăderea volumului plasmatic – *eritrocitoză relativă*.

### 3.1.2.2 Anomalii ale indicilor eritrocitari care pot fi descrise pe frotiu

Termenii folosiți pentru a descrie modificările hematiilor la examenul frotiului de sânge periferic sunt următorii:

**Anizocitoză** – pe frotiu hematiile au un diametru variat.

**Anizocromie** – pe frotiu eritrocitele au diferit grad de colorație.

**Acantocitoză** – eritrocite cu ghimpi multipli ai citoplasmei de diverse dimensiuni.

**Eritrocite cu punctații bazofile** (granulații bazofile). Punctațiile bazofile din eritrocite se prezintă sub formă de granule ușor inegale ca mărime, numeroase, răspândite destul de uniform în celulă. Se colorează cu May-Grünwald-Giemsa în albastru-violet; mai net și mai sigur apar cu colorația cu albastru de metilen, în nuanță albastră-verzuie. Se întâlnesc în special în intoxicația cu plumb (saturnism), dar se pot întâlni și în alte anemii, cum ar fi talasemia, anemii megaloblastice.

**Eritrocite hipercrome.** Colorația eritrocitelor este mai intensă.



**Eritrocitele hipocrome** (hipocromie) sunt palide în comparație cu cele normale. Astfel de celule sunt slab încărcate cu hemoglobina și hipocromia este aproape totdeauna însoțită de microcitoză.

**Anulocitul** este un eritrocit hipocrom cu hemoglobina concentrată la periferie, încât centrul pare complet necolorat, lipsit de conținut, dând elementului aspectul unui inel. Eritrocitele hipocrome și anulocitele sunt caracteristice pentru anemiile fierodeficitare și talasemii.

**Macroците** – eritrocite cu diametrul între 8–9  $\mu\text{m}$ . Macroцитоза reprezintă o stare în care predomină macroците. Se întâlnește în anemiile megaloblastice, posthemoragice acute, afecțiunile hepatice, la nou-născuți și în alcoolismul cronic.

**Megalocyte** – sunt eritrocite mature care rezultă din megaloblast cu diametrul 10–12  $\mu\text{m}$  și mai mult intens colorate. Sunt specifice pentru anemiile megaloblastice.

**Microците** – eritrocite cu diametrul mic 5–6  $\mu\text{m}$ .

**Microcitoza** – o stare când în frotiu predomină microците, este caracteristică pentru anemiile feriprive.

**Sferocyte și microsferocyte** – eritrocitele care își pierd aspectul biconcav și devin sferice. Hematiile sunt intens colorate, pierd zona centrală palidă și au un diametru mai mic decât hematia normală. Sunt specifice pentru microsferocitoza ereditară (sferocitoza ereditară).

**Hematii “în țintă”** – în hematii se observă două zone intens colorate – una la periferia eritrocitului și alta în centrul acestei, între ele se află o zonă incoloră “semn de tras la țintă”. Se întâlnesc în talasemii.

**Dacriocyte** – eritrocitele au forma unei picături.

**Drepanocyte (eritrocite falciforme)**. Eritrocitele falciforme, cunoscute și sub numele de drepanocyte, au formă de seceră, de virgulă sau uncori de bastonaș. Ele caracterizează hemoglobinoza S (drepanocitoza).

Forma drepanocitară a eritrocitelor este mult favorizată, dacă se lasă sângele în cameră umedă mai multă vreme și în prezența

substanțelor reductoare, cum sunt cisteina sau metasuľitul de sodiu. Caracterul falciform este legat de prezența hemoglobinei S.

**Stomatocite** (bucocite) – eritrocite în care depresiunea centrală (slab colorată) nu are forma rotundă, ci alungită, lungă, asemănătoare cu gura semideschisă. Sunt caracteristice pentru stomatocitoza ereditară.

**Ovalocite** (cliptocite) – eritrocite de formă ovală, se întâlnesc (peste 25%) în ovalocitoză ereditară.

**Poikilocitoza.** Existența pe frotiu a hematiilor cu forma variată. Se întâlnesc frecvent în anemiile megaloblastice.

**Eritrocite policromatofile.** Unele eritrocite nu sunt colorate în roz, ci prezintă o serie de nuanțe, de la roz-cenușiu la albastru-cenușiu și albastru-violaceu. Sunt celule mai mari, ce provin din normocite care și-au pierdut nucleul într-un stadiu mai tânăr, în felul acesta încărcarea lor în hemoglobina este mai mică decât în mod normal. Colorația vitală demonstrează că aceste eritrocite policromatofile sunt reticulocite și se întâlnesc în anemiile hemolitice.

**Schizocite** – elemente mici, cu diametrul de 2–4  $\mu\text{m}$ , rotunde sau deformatе. Se crede că schizocitele rezultă dintr-o fragmentare patologică a eritrocitelor. Se întâlnesc în anemiile hemolitice și megaloblastice.

**Corpusculii Heinz** (Fhrlich-Heinz) sunt granule mici, rotunde, puține la număr, așezate adesea spre periferia celulei, mai frecvent izolate, unice; pot fi însă și multiple. Nu se colorează prin metoda pancromică, ci numai prin coloranți vitali, cum ar fi albastru de Nil, violetul de metil, albastru briliant de crezil și reprezintă o hemoglobină precipitată în anemiile cu deficit de glucozo-6-fosfat dehidrogenază și unele hemoglobinopatii.

**Corpui Jolly** (Howell-Jolly) – corpusculi intraeritrocitari, rotunzi, în număr mic (2–3), formați din material nuclear. Apar la pacienți după splenectomie și în anemiile megaloblastice.

**Inele Cabot** – în eritrocit se observă formațiuni azurofile subțiri, filiforme sub formă de inel sau cifra opt și prezintă resturi de membrană nucleară. Apar în anemiile megaloblastice.

**Inele Cabot** – în eritrocit se observă formațiuni azurofile subțiri, filiforme sub formă de inel sau cifra opt și prezintă resturi de membrană nucleară. Apar în anemiile megaloblastice.

În figura 3.1 sunt expuse modificările hematiilor în normă și diverse stări patologice care pot fi depistate la examenul frotiului de sânge periferic.

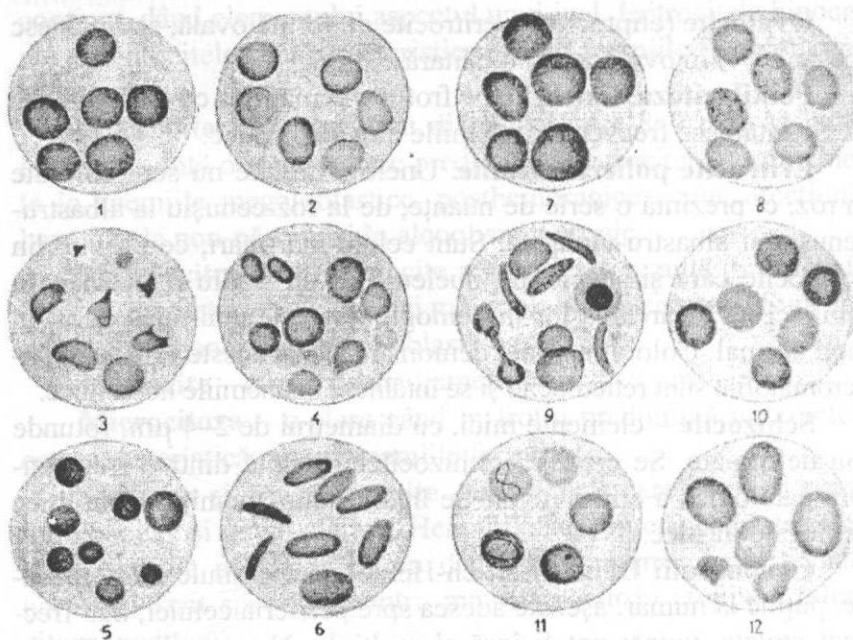


Fig.3.1 Eritrocitul normal și patologic (după Heilmeyer):

1 – normal; 2 – hipocromie; 3 – poikilocitoză; 4 – anizocitoză; 5 – microcitoză; 6 – ovalocitoză; 7 – macrocitoză; 8 – granulații bazofile; 9 – drepanocite și resturi nucleare; 10 – hiperchromie; 11 – corpusculi Jolly și inele Cabot; 12 – megalocitoză.

### 3.2 Studiul seriei leucocitare

Leucocitele reprezintă un grup de celule eterogene, care sunt clasificate după câteva principii:

1. după proveniență – mieloide și limfoide;

**Granulocitopoieza.** Diferențierea și maturarea celulelor granulocitopoiezei are loc în măduva osoasă din celulele progenitoare ale granulocitelor. Până la apariția granulocitului matur circulănt celulele stem, morfologic neindentificabile parcurg succesiv următoarele stadii: mieloblastul, promielocitul, mielocitul, metamielocitul, granulocitul cu nucleu neseșgmentat și segmentat. Mieloblastii, promielocitele și mielocitele posedă capacitatea de proliferare – diviziune (înmulțire), metamielocitele, granulocitele cu nucleu neseșgmentat și segmentat – prezintă stadii de maturare.

Procesul de formare a granulocitului matur în măduva osoasă din mieloblast se realizează în decurs de 10–13 zile.

Granulocitele mature sunt reținute în măduva osoasă timp de 3–4 zile, prezentând un rezerv care poate fi mobilizat după necesitățile organismului preponderent în infecții. Numărul granulocitelor în măduva osoasă este de 10 ori mai mare decât în circulație. În mod normal din măduva osoasă în circulația sanguină pătrund numai celulele mature.

### 3.2.1 Morfologia celulelor granulocitopoiezei

**Mieloblastul.** Diametrele sale sunt de 15–20  $\mu\text{m}$ , forma rotundă sau, mai adesea, neregulat rotundă sau ovalară. Nucleul este mare, ocupă aproape toată celula, oval, cu structură cromatiniană fină, hipocromă, cu mai mulți nucleoli (până la 2–5) de culoare albastră-deschisă.

Citoplasmă este bazofilă, de diferite nuanțe nu prezintă granulații, însă la celulele mai mature se întâlnesc deseori câteva granulații azurofile, care reprezintă dovada trecerii spre promielocit. Morfologic se aseamănă cu eritroblastii, dar citoplasma eritroblastilor este mai intens bazofilă.

**Promielocitul.** Este o celulă mare, de 20–25  $\mu\text{m}$  (cea mai mare celulă din seria granulocitară), de formă rotundă sau ovulară.

Nucleul este mare, ovular, situat în centru. Se pot întâlni și promielocite cu nucleoli neclar vizibili. Cromatina nucleară fină începe să se condenseze din loc în loc.

Citoplasma bazofilă prezintă granulații azurofile primare (nespecifice). Ele au diferite aspecte, atât după formă, cât și după culoare: punctiforme, bastonașe, virgule, roșii-închise sau roșii-întense.

**Mielocitul.** Are dimensiuni între 10 și 18  $\mu\text{m}$ . Nucleul este rotund sau ovular mai mic și mai închis la culoare decât al promielocitului, prezintă grămezi de cromatină, structura fiind mai grosolană; nucleolii de obicei lipsesc.

Citoplasmă este slab bazofilă, virată spre acidofilie de culoare roz-palid. Se păstrează granulațiile primare (nespecifice) și apar granulațiile specifice: neutrofile, eozinofile și bazofile.

*Mielocitul neutrofil* reprezintă granulații neutrofile, brune, fine și foarte numeroase, pe un fond de citoplasmă roz-palid.

*Mielocitul eozinofil* reprezintă granulații eozinofile numeroase, de talie mare, rotunde, de culoare portocalie, lipite unele de altele, acoperind toată citoplasma.

*Mielocitul bazofil* conține granulații de talie mare, neregulate după formă și dimensiuni, mai puțin numeroase. Se colorează în violet-închis spre albastru.

**Metamielocitul.** Are dimensiuni de 10–15  $\mu\text{m}$ . Relațiile nucleoplasmatice constituie 1:1. Nucleul reniform este în formă de potcoavă sau bob. În structură grămeziile de cromatină devin mai grosolane.

Citoplasma este de culoare roz, reprezintă granulații diferențiate în cele 3 direcții: neutrofile, eozinofile și bazofile.

**Granulocitul nesegmentat.** Diametrul este de 10–16  $\mu\text{m}$ . Structura nucleului devine mai grosolană având forma alungită, luând diferite poziții: bastonașe, literele „S”, „U”.

Citoplasma este acidofilă (roz) și conține granulații diferențiate: neutrofile, eozinofile sau bazofile.

Prin strangularea nucleului, granulocitul nesegmentat, cu nucleul în formă de garou sau îndoit, devine segmentat cu 2, 3, 4, 5 segmente de nuclee. Se consideră segmentate celulele la care punțile de legătură între segmentele nucleare sunt mai subțiri cu  $\frac{1}{2}$ , 50% decât grosimea segmentelor.

Granulocitul neselementat este prima celulă din seria granulocitopoezei care poate fi găsită în mod normal în sângele periferic, în proporție de 1-4%.

**Granulocitul segmentat.** Aceste celule au nucleul poliselementat. După dimensiuni variază între 12 și 15  $\mu\text{m}$ . Nucleul caracteristic prezintă structura descrisă la granulocitul neselementat. Cu cât celula este mai matură, cu atât are mai multe segmente, în mod normal, putem găsi până la 5 segmente; în stări patologice se pot găsi un număr mai mare, de exemplu în anemia megaloblastică.

*Granulocitul segmentat neutrofil* are citoplasmă acidofilă, este roz-palid, cu granulații neutrofile; nucleul are 2-5 segmente.

*Granulocitul segmentat eozinofil* are citoplasmă plină de granulații caracteristice portocalii. Este important de remarcat că nucleul granulocitului eozinofil reprezintă numai 2 segmente (nucleu în bisac), și mult mai rar 3 segmente.

*Granulocitul segmentat bazofil* se recunoaște prin prezența granulațiilor bazofile care acoperă aproape toată citoplasma, multe întâlnindu-se suprapuse peste nucleu. Nucleul este segmentat, desori neregulat, în linii generale, bazofilele sunt ceva mai mici decât neutrofilele și eozinofilele.

În mod normal, mieloblastul, promielocitul, mielocitul și metamielocitul se găsesc numai în măduva hematopoietică. Granulocitele mature ce rămân în măduva osoasă circa 3 zile, formând fondul de rezervă, ulterior trec în sângele circulant. Ele circulă aproximativ 10 ore, apoi migrează în țesuturi, unde își exercită funcțiile specifice și se necrotizează.

*Funcțiile principale ale granulocitelor neutrofile sunt:*

Granulocitele neutrofile posedă proprietatea de a *fagocita* și de a digera bacteriile și particule străine.

Granulocitele eozinofile posedă de asemenea proprietatea de a *fagocita*, deși într-un grad mai mic decât neutrofilele. Eozinofilele sunt celulele efectoare în distrugerea prin anticorpi a helminților, reglează reacțiile de hipersensibilitate imediată. Eozinofilele sunt sporite în stările de alergii, conțin în granulații o mare cantitate de histaminază.

Funcțiile granulocitelor bazofile sunt puțin cunoscute. Ele eliberează heparină și histamină.

### 3.2.2 Anomaliile celulelor seriei granulocitare

În multe stări patologice leucocitele circulante pot prezenta alterări numerice, morfologice sau funcționale. Însușirea tehnicilor privind numărătoarea leucocitelor și determinarea morfologiei lor poate fi de un real folos pentru orice clinician, indiferent de specialitatea lui.

Variațiile numărului de granulocite sunt cele mai frecvent întâlnite și pot fi asociate atât cu afecțiuni benigne (de natură netumorală), cât și maligne (leucemii).

Leucocitoza – reprezintă o creștere a numărului absolut de leucocite neutrofile, eozinofile, bazofile, precum și a monocitelor și limfocitelor peste valorile normale –  $11 \times 10^9/l$ .

Leucopenia – este definită prin scăderea numărului absolut de leucocite sub valorile normale –  $4 \times 10^9/l$ . Ea poate fi cauzată de diferiți factori.

Analiza generală a sângelui de rând cu numărătoarea leucocitelor în cifre absolute ( $mm^3$  sau litru) include examinarea frotiului de sânge periferic și determinarea formulei leucocitare – raportul procentual la o sută a diferitor forme de leucocite (indice relativ). La aprecierea rezultatelor formulei leucocitare este necesar de luat în calcul și conținutul numeric al fiecărui tip de leucocite, în cifre absolute, care poate fi calculat din numărul total de leucocite și conținutul procentual al tipurilor de leucocite. În unele cazuri nu există o corelație (normală) între parametrii cantitativi și cei procentuali, deci modificarea valorilor procentuale al unui tip de leucocite nu întotdeauna indică modificarea lor numerică, în cifre absolute.

#### 3.2.2.1. Modificările numărului de granulocite

*Neutrofilie* (leucocitoză cu neutrofile) se numește creșterea numărului absolut al leucocitelor neutrofile în sângele periferic

mai mult decât  $7,0 \times 10^9$ /litru. O cauză importantă a leucocitozelor cu neutrofile este infecția în special cu bacterii piogene.

Alte cauze pot fi: inflamațiile acute și cronice, procesele purulente, necroza tisulară, tulburări metabolice, bolile maligne nehematologice și hematologice. Neutrofilia poate apărea în unele stări fiziologice: activitate fizică, stres, sarcină.

În linii generale, neutrofiloza cu neutrofile, constatată izolat în cursul unei stări febrile, este o indicație despre un eventual focar purulent sau o stare septică. Determinarea cifrei absolute a neutrofilelor, deci numărul lor pe litru, este necesară.

Neutrofilele circulante la persoanele sănătoase sunt celule mature (polimorfonucleare, segmentate) și un număr mic de celule nesegmentate. În unele stări patologice în circulație apare un procent mic de mielocite și metamielocite. Această stare este denumită devierea la stânga a formulei leucocitare. Devierea la stânga a formulei leucocitare demonstrează existența unei granulocitopoieze accelerate care apare în infecții bacteriene acute, arsuri severe. Neutrofilele în aceste cazuri pot fi vacuolizate, granulații toxice și corpii Dohle. Atare modificări morfologice prezintă indicii ai gravității procesului.

*Reacțiile leucemoide de tip mieloid* (cu numărul crescut de neutrofile). În unele cazuri examinarea frotiului de sânge periferic descrie anomalii, care se aseamănă cu modificările caracteristice pentru leucemiile granulocitare cronice. În aceste condiții numărul de leucocite este majorat, iar în formula leucocitară apar forme tinere: promielocite – 1%; mielocite – 5–10%; metamielocite – 10–15%.

În neutrofile pot fi prezente granulații toxice și corpii Dohle. Reacția leucemoidă cu număr crescut de neutrofile poate apărea în infecții severe bacteriene, intoxicații, hemoragii severe, boli maligne cu metastaze osoase. Ele trebuie diferențiate de leucemia granulocitară cronică.

*Neutropenie.* Conținutul neutrofilelor e sub  $1,5 \times 10^9$ /litri.

Neutropenia se întâlnește în unele boli infecțioase, cum ar fi febrele tifoidă, paratifoidă, bruceloză, în viroze, cum ar fi gripa,



rujcola, rubeola, în boli prin protozoare: paludism, kala-azar, febră recurentă.

Neutropenia poate fi prezentă la pacienții care au administrat variate medicamente. Când numărul de neutrofile scade sub  $0,5 \times 10^9/\text{litru}$  ( $500/\text{mm}^3$ ), vorbim de agranulocitoză.

*Eozinofilie.* Se caracterizează prin creșterea numărului absolut de cozinofile peste  $0,6 \times 10^9/\text{litru}$ . Numărul general de leucocite sanguine poate fi normal sau crescut.

Eozinofilia se întâlnește în diverse afecțiuni:

- stări alergice, dermatoze, parazitoze;
- sindromul Loeffler (pneumopatie cu eozinofile); sindromul hipereozinofilie;
- hemopatii: leucemia mieloidă cronică.

*Eozinopenia* – micșorarea numărului de eozinofile sub  $0,05 \times 10^9/\text{litru}$  – se întâlnește în faza de început al unor agresiuni, de exemplu, boli infecțioase, intoxicații sau după administrare de hormoni corticoizi sau ACTH.

*Bazofilia.* Granulocitele bazofile cresc supra  $0,15 \times 10^9/\text{litru}$  în leucemiile mieloidă cronică. Asocierea de bazofilie cu eozinofilie este un semn frecvent întâlnit și precoce în leucemia mieloidă cronică.

**Importanța cercetării variațiilor granulocitelor în cursul bolilor infecțioase.** Creșterea sau scăderea excesivă a granulocitelor indică un prognostic nefavorabil. Prezența formelor cu granulații toxice – corpii Dohle – sau a formelor degenerative ține de asemenea de prognostic nefavorabil. Prezența formelor tinere în număr mare, mai ales când depășesc numeric pe cele mature, are iarăși o semnificație nefavorabilă. Absența eozinofilelor are aceeași semnificație.

Evoluția favorabilă, vindecarea se anunță prin diminuarea formelor imature și a celulelor cu granulații toxice, însoțită de creșterea eozinofilelor, apoi a monocitelor și în cele din urmă a limfocitelor.

### 3.2.2.2 Anomaliile morfologice ale granulocitelor

Anomaliile morfologice pot fi *dobândite* și *ereditare*.

Anomaliile dobândite sunt prezente în infecții grave și intoxicații, indică evoluția bacteriemiei și generalizarea infecției. Modificările morfologice apar atât în structura nucleului, cât și a citoplasmei.

1. Granulații toxice – citoplasma conține un număr mare de granule intens azurofile de dimensiuni mari.

2. Vacuolizarea citoplasmei – se observă mai rar, comparativ cu granulațiile toxice. Citoplasma poate prezenta zone incolore.

3. Neutrofile hipogranulare sau hialine – se caracterizează prin diminuarea sau dispariția ale granulațiilor citoplasmatică.

4. Vacuolizarea nucleului – nucleul prezintă zone incolore.

5. Hipersegmentarea nucleului neutrofilelor – conține mai mult de 5 lobi. Se observă în anemiile megaloblastice, pot fi și de natură ereditară.

6. Cromatofinoliza nucleelor – nucleul are formă de inel.

7. Corpii Dohle – sunt incluzii citoplasmatică de 1–2  $\mu\text{m}$  lungime, de culoare albastră-cenușie, situate la periferia celulei. Prezintă zone ale citoplasmei lipsite de granulații.

8. Nucleofagocitoza. Celulele LE, fenomenul LE (lipus erythematosus). Se observă mai des la pacienții cu lupus erythematosus (80%), uneori în artritele reumatice, sclerodermie. Prezintă neutrofile, care au fagocitat (înglobat) substanța nucleară fracționată, devizată în bucăți care are forma rotundă sau ovală, de culoare roșie-intensă, ocupă porțiunea centrală a celulei, uneori toată celula, iar nucleul propriu al neutrofilelor este împins spre periferie. Prin urmare, celulele LE reprezintă neutrofile (uneori eozinofile sau monocite) care au fagocitat substanța nucleară omogenizată (nu are formă de nucleu) a altor celule descompuse prin procesele autoimune. Acest proces se produce numai in vitro, la incubarea sângelui.

Celulele-LE trebuie diferențiate de celulele Tart ce reprezintă o substanță nucleară fagocitată care păstrează structura morfologică a nucleului.

*Anomaliile ereditare* se împart în anomalii **calitative și cantitative**. Din anomaliile calitative fac parte:

— **Anomaliile nucleare** privesc mai ales gradul de segmentare a nucleelor.

1. *Anomalia Pelger-Huet* este o anomalie ereditară transmisă pe cale dominantă, caracterizată prin absența de segmentare a nucleului granulocitelor; aproape toți nucleii sunt nesegmentați sau prezintă cel mult 2 lobi. Structura cromatiniană este mai grosolan condensată, decât la normal. Astfel de nesegmentate se mai numesc și pseudometamielocite. Indivizii purtători de o astfel de anomalie a granulocitelor nu prezintă nimic patologic. Anomalia se întâlnește și la eozinofile.

2. *Hipersegmentarea constituțională (familiară) a nucleelor granulocitelor neutrofile*. Neutrofilele conțin în nucleu mai mult de 5 lobi.

— **Anomalii citoplasmatiche** ale granulocitelor sunt următoarele:

1. *Anomalia Adler* este o anomalie constituțională foarte rară a granulațiilor; toate tipurile de granulocite, de la promielocit la granulocitul adult, conțin numeroase granulații azurofîle mari în citoplasmă care ascund nucleul celulelor.

2. *Anomalia May-Hegelin* se caracterizează prin prezența în citoplasmă a unor granule de culoare albastră-deschisă, în formă de seceră sau fus, după dimensiuni sunt mai mici decât corpii Dohle (dar asemănătoare). Se transmit pe cale autosomo-dominantă.

3. *Anomalia Chediak*. Dereglare ereditară a formării granulocitelor, se transmite pe cale autosomo-recesivă. Se caracterizează prin afectarea pronunțată a funcției granulocitelor (fagocitoză, imunitatea celulară). În citoplasma leucocitelor sunt incluzii corpusculare mari (gigante) de culoare verde-surie cu reacție pozitivă la peroxidază. Este asociată de neutropenic ( $1-3 \times 10^9/\text{litru}$ ).

– **Anomalii cantitative.** Dintre acestea fac parte neutropenia constituțională și eozinofilia familială.

### 3.3. Studiul seriei limfocitare

Toate celulele seriei limfocitare (T și B) își au originea din celula stem limfoidă din măduva osoasă. Conținutul tuturor celulelor limfoide în măduva osoasă constituie aproximativ 10% din numărul cariocitelor. În procesul limfocitopoiezei în măduva osoasă din celulele stem limfoide generează două tipuri de celule progenitoare ale limfocitelor.

**Limfocitopoieza.** Celulele progenitoare ale limfocitelor T migrează în cursul procesului de limfopoieză din măduva osoasă în timus, unde are loc măturarea lor (limfocite-T-timusdependente). O altă parte de celule progenitoare – B, rămân în măduva osoasă, unde se maturizează sub influența mediului din acest țesut în limfocite B (Burs-dependente. Bursa – Fabriția este un organ special la păsări, unde are loc maturizarea acestor celule). Apoi celulele mature T și B părăsesc timusul și măduva osoasă, trec în torentul circulator și de aici în organele limfoide periferice (ganglionii limfatici, foliculii limfatici, splina etc.), unde se depun în zonele T și B separat. În sângele periferic circulă doar 0,1% din numărul total de limfocite ale organismului (aproximativ 1700 g).

**Limfoblastul** este o celulă cu talie de 10–22  $\mu\text{m}$ , cu nucleul dispus central sau excentric de formă rotundă sau ovală, cu cromatina ca o rețea fină; raportul nucleo-citoplasmatic 7:1; 4:1. Nucleul conține cel mai adesea 1–2 nucleole, bine delimitate colorate palid. Nucleul are o culoare roșie-violetă. Citoplasma limfoblastului este de culoare albastră-deschisă, uneori mai închisă, lipsită de granulații.

**Prolimfocitul** constituie treapta ulterioară de maturare în seria limfocitară. Celula are dimensiuni de 9–12  $\mu\text{m}$ . Nucleul este de structură cromatiniană mai densă decât a limfoblastului, nucleolul este mai puțin vizibil sau apare numai ca o urmă.

**Limfocitele** au dimensiuni și caracteristici morfologice variate în funcție de gradul lor de maturitate (7–15  $\mu\text{m}$ ).

*Limfocitul mare macrocitoplasmatic* măsoară 12–16  $\mu\text{m}$ . Nucleul mare este rotund, ovular, uneori riniform. Este mai mic comparativ cu nucleul limfoblastului, mult mai închis la culoare și prezintă grămezi de cromatină de aspect compact. Nu prezintă nucleole.

Citoplasma întinsă amplă este bazofilă, albastră ca cerul, conține adesea câteva granulații azurofile mici sau mari.

*Limfocitul mic* este o celulă de talie mică, cât un eritrocit sau puțin mai mare.

Nucleul este ușor ovular, uneori puțin curbat, situat excentric, violet-închis spre albastru-închis, ocupă  $\frac{9}{10}$ , aproape toată celula. Citoplasma, intens bazofilă, este foarte redusă, îngustă, uneori conține puține granule azurofile.

În mod normal există aproximativ 10% de limfocite mari și 90% mici. La copil numărul limfocitelor mari este mai ridicat.

### 3.3.1 Funcția limfocitelor

Funcția principală a limfocitelor constă în implicarea lor în răspunsurile imune, fiind denumite din acest motiv celule ale sistemului imun. Principalul fenomen din punct de vedere funcțional al limfocitelor T și B îl constituie existența pe suprafața lor a receptorilor (unor molecule specifice), astfel fiecare celulă fiind capabilă să recunoască un antigen specific. Din această cauză identificarea diferitor tipuri de limfocite nu se bazează pe aspectul lor morfologic, ci pe unele criterii imunologice: 1. reactivitatea față de anumiți anticorpi monoclonali (CD); 2. prezența imunoglobulinelor de suprafață; 3. reangajarea genilor pentru receptorul celulei T (TCR).

S-a constatat că limfocitele circulante sunt funcțional neactive, morfologic acestea sunt prezentate de limfocitele mici. Contactul cu un antigen specific declanșează activarea limfocitelor,

manifestarea funcției lor specifice, proliferarea și transformarea în celulele efectoare.

Grupul celulelor T efectoare include:

1. celule helper ( $CD_{4+}$ ), care induc activarea limfocitelor B și maturarea altor tipuri de limfocite T;
2. celule supresoare ( $CD_{8+}$ ), care deprimă activitatea limfocitelor B și exercită un efect citotoxic asupra celulelor străine și celor infectate cu virus;
3. celule citotoxice (K, Killer) etc.

Prin urmare, celule T exercită următoarele funcții principale:

1. asigură imunitatea celulară împotriva virusurilor; fungilor și micobacteriilor, respingerea tumorilor și a țesuturilor transplantate;
2. cooperează cu celulele B în producerea anticorpilor, deprimă activitatea celulelor B.

Funcția celulelor B. – Celulele B neactive exprimă pe suprafața lor moleculele de IgM, IgD, IgG, IgA – imunoglobuline de suprafață. În urma contactului cu antigenul specific limfocitele B se diferențiază în plasmocite, care produc anticorpi (Ig) și asigură răspunsul imun umoral.

Valorile procentuale ale tipurilor de limfocite din sângele circulant sunt: T – 60–85%; B – 10–30%; NK (Natural Killer) – 2–10%.

Se afirmă că majoritatea limfocitelor circulante mor. O parte din ele au durata vieții mult mai mare în raport cu granulocitele.

### **3.3.1.1 Anomalii ale limfocitelor**

#### **Modificările numărului de limfocite.**

Linfocitoza este caracterizată prin creșterea numărului absolut de limfocite în sânge la maturi peste  $4 \times 10^9$ /litru, la copii peste  $7 \times 10^9$ /litru, iar în formula leucocitară peste 40–45% la adulți și peste 70% la copii.

Linfocitoza constituie răspunsul obișnuit al organismului la diferite infecții virale: mononucleoza infecțioasă, infecția cu cito-

megalovirus, rubeola, rujeola, varicela, hepatita acută infecțioasă, limfocitoza infecțioasă.

În mononucleoza infecțioasă numărul crescut de limfocite este asociat cu prezența unor limfocite mari atipice – mononucleare.

Unele infecții bacteriene sunt asociate de limfocitoză, în special la copii (1–7 ani). La fel limfocitoza prezintă un indice de laborator specific pentru afecțiunile tumorale: leucemie limfatică cronică, limfoame maligne, gamopatiile monoclonale.

Limfocitopenia – scăderea numărului de limfocite sub  $0,5 \times 10^9/l$ , la copii sub  $3 \times 10^9/l$ . Este caracteristică pentru sindromul de imunodeficiență congenitală, postiradiere, tratamentul cu corticosteroizi și medicamente citotoxice, uremie, sarcoidoză.

### 3.4 Seria monocitară

Monocitele sunt celule sanguine care în prezent sunt grupate într-un sistem denumit sistem al fagocitelor mononucleare. În acest sistem sunt incluse monocitele din măduva osoasă, monocitele circulante din sângele periferic și macrofagele din țesuturi. Monocitele se formează în măduva osoasă dintr-o celulă precursoră mieloidă comună cu seria granulocitară, trecând fazele de monoblast și promonocit timp de 5 zile, după ce trece în sânge. Din promonocitul măduvei oaselor se dezvoltă două linii de celule: componentul celular mononuclear fagocitar și celulele dendritice.

Prima linie de celule este prezentată de monocite provenite din promonocite și care circulă puțin timp în sângele periferic, ulterior se întorc în țesuturile organismului, fixându-se în diferite organe sub denumirea de histiocit (fagocit macrofag). Structura lor se acumulează la organul unde s-au fixat, având diferite denumiri (celulele Kupfer în ficat, macrofag alveolar, peritoneal, pleural, macrofagi în măduva oaselor, splină, ganglionii limfatici, osteoclaști). Celulele microgliale din creier la fel se consideră derivate macrofagale, dar acest fapt încă nu este confirmat deplin.

Histiocitele (macrofagiale) fixate în țesuturi prezintă un stadiu de maturizare ulterioară a monocitelor. Ele sunt mai mari, cu o ci-

toplasmă eozinofilică abundentă, au un număr mai mare de lizosomi. Macrofagele secretă multe substanțe biologice active și au importanță imunoreglatorie, fagocitară, de distrugere a microbilor.

A doua linie de celule include celulele dendritice. Aceste celule, asemenea celor macrofagale, provin din promonocitele măduvei oaselor și la fel ca și celulele macrofagiale, se distribuie în diferite organe. În conformitate cu localizarea lor deosebim trei categorii de celule dendritice:

1. Celule Langherhans situate preponderent în dermă.
2. Celule interdighitante, care se află în zona paracorticală a ganglionilor limfatici.
3. Celule dendritice foliculare, care înconjoară foliculii ganglionilor limfatici.

Aceste celule morfologic nu diferă una de alta. La microscopia obișnuită ele, fiind colorate cu hematoxin-eozină, au citoplasmă de culoare roz și nucleu „încrêștit” cu cromatină granulară. Microscopia electronică a demonstrat că celulele dendritice se caracterizează printr-o membrană iregulară și un număr variabil de lizosomi, lipide și glicogen. Ele n-au microvili ca macrofagele. Celulele dendritice la microscopia electronică se mai deosebesc de histiocitele din prima linie prin depistarea în citoplasma lor a granulelor Birbeck, numite de asemenea și granulele Langherhans. Aceste granule au structuri caracteristice cu lungimea de 180–360 nm cu o linie centrală striată și cu o lărgire veziculară a membranei la unul din capete, ce-i redă formă de rachetă de tenis. Celulele dendritice nu fagocitează, sunt antigendependente și acționează în reacții imune.

*Funcția monocitelor și macrofagelor:*

1. fagocitează și distrug bacteriile;
2. captează din sânge detritusurile celulare și celulele sanguine îmbătrânite;
3. interacționează cu limfocitele în procesul imun – prezintă antigenul prelucrat limfocitului prin intermediul sistemului de histocompatibilitate de clasa II; de asemenea, secretă interleukina 1 care activează limfocitul T;



4. au efecte citotoxice la nivelul celulelor tumorale;
5. exprimă la suprafața membranei receptorul Fc pentru porțiunea Fc a imunoglobulinei și poate activa componente din sistemul complementului;
6. secretă o serie de substanțe active: factorul stimulator al coloniilor de neutrofile și monocite (GM-CSF); factorul inhibitor al migrării macrofagului (MIF); interleukina 1; factorul de necroză tumorală (TNF);
7. activează tromboplastina tisulară.

### 3.4.1 Morfologia celulelor monocitopoiezei

**Monoblastul** este o celulă ovulară foarte mare, cu diametre de 14–20  $\mu\text{m}$ . Nucleul ovalar sau rotund de culoare albastruie-violetă, posedă 1–5 nucleoli. Raportul nucleu:citoplasmă = 3:1. Citoplasma redusă, de culoare surie, fumurie, fără granulații.

**Promonocitul**, diametrul 14–20  $\mu\text{m}$ . Nucleul mare ovalar sau sub formă de bob de culoare violetă-deschisă. Conține 1–2 nucleole. Cromatina este laxă, reticulară, bazofilă, de culoare albastruie-surie (fumurie), conține granulații foarte fine azurofile, albastrui, uneori cu vacuole.

**Monocitul** – celulă mare – 14–21  $\mu\text{m}$ . Este cea mai mare celulă din sângele periferic. Nucleul este mare, raportul cu citoplasma 1:1 cu structura fină de culoare violetă-deschisă (purpurie-închisă). Este lipsit de nucleoli.

Forma nucleului poate fi extrem de variată: ovală sau reniformă (în formă de potcoavă), uneori adânc incizată sau polilobată.

Citoplasma are o culoare albastră-cenușie, palidă, tulbure, clasic comparată cu cerul înnourat de furtună; conține fine granulații azurofile, presărate ca o pulbere. Nucleul monocitului este caracteristic: în general mare, cu structura cea mai fină dintre toate elementele normale din sângele periferic, nucleul este sărac în cromatină, palid, format dintr-o rețea laxă caracteristică. Nu are nucleoli, nici mase de cromatină condensată.

### 3.4.2 Anomaliile seriei monocitare

Se caracterizează prin creșterea numărului de monocite supra  $1,0 \times 10^9/\text{litru}$ .

*Monocitoza*. Deoarece monocitele au o mare importanță în patogenia inflamației și reacțiilor imune numărul lor crește în infecțiile cronice: tuberculoză, sifilis, bruceloză, endocardita septică subacută, lupus eritematos, artritele reumatoide etc. Monocitozele pot apărea în afecțiunile tumorale (leucozele monocitare).

*Monocitopenia* – scăderea numărului de monocite sub  $0,09 \times 10^9/\text{litru}$ , apare la inhibiția (hipoplazia) hematopoiezei.

### 3.5 Seria trombocitară

**Megacariocitopoieza și trombocitopoieza.** În cursul formării trombocitelor se realizează un model particular de mitoză a celulelor stem – endomitoză, manifestat printr-o replicare a ADN fără diviziunea nucleului și a celulei. Drept urmare, se formează celule gigante uninucleare cu 8–64 cariotipuri, numite megacarioblaști.

În cursul etapelor de proliferare și diferențiere ale seriei megacariocitare sunt recunoscute următoarele tipuri celulare:

1. Megacarioblastul – celulă mare (20–50  $\mu\text{m}$ ), cu nucleul rotund, ovular sub formă de bob, intens colorat (de la roșu-purpuriu până la violet) conține câteva nucleole. Raportul nucleu : citoplasmă – 5:1, 3:1. Citoplasma redusă și bazofilie marcantă (de la albastră-deschisă până la albastră-închisă).

2. Promegacariocitul – celulă mare (20–80  $\mu\text{m}$ ), cu nucleul de formă neregulată, discret, lobulat sau polilobat, conține câteva nucleole. Raportul nucleu : citoplasmă – 1:1. Citoplasma e de culoare roz-albastră. Conține câteva granule albastre.

3. Megacariocitul – talia este de 40–100  $\mu\text{m}$ , nucleul polilobat, de culoare purpuriu-închisă, nucleolele lipsesc. Citoplasma bogată, ambudentă, de culoare roz, conține multiple granulații, ce corespund viitoarelor trombocite. Printr-un proces de descuamare

din megacariocite se formează trombocitele, care trec în circulație. Din fiecare megacariocit se formează 4.000–6.000 de trombocite.

**Trombocitul.** Rotunde sau ovulare, trombocitele au dimensiuni care variază între 2 și 5  $\mu\text{m}$ , în structura lor se disting două părți:

- partea periferică, omogenă, aproape incoloră sau foarte slab bazofilă, denumită hialomer;

- partea centrală, denumită cromomer (granulomer), conține granulații dens dispuse, care provin din îngrămădirea granulațiilor citoplasmaticc megacariocitare. Ele sunt de culoare roșie-violacee.

Granulațiile cromomerului sunt de obicei grupate în centrul celulei; uneori însă apar răspândite pe toată suprafața celulei sau dispuse în coroană în jurul unei vacuole, iar altc ori foarte strânse în centrul celulei. Aceste granulații ale cromomerului sunt pur azurofile: reacția Feulgen, verdele de metil nu le colorează, ceea ce dovedește absența de cromatină.

### 3.5.1 Fiziologia celulelor seriei trombocitare

Maturația totală a unui megacariocit durează aproximativ 4 zile. Durata de viață a trombocitului este de aproximativ 4-8 zile. Printre caracteristicile trombocitelor, aglutinabilitatea lor spontană și adezivitatea prezintă interes practic și trebuie cercetate în afecțiunile legate de patologia trombocitelor.

## 3.6 Valorile normale (intervale de referință) ale miclogramei

*Tabelul 3.1*

**Valorile normale (intervale de referință) ale mielogramei la adulți**  
(Соколов В.В., Грибова И.А., 1972)

Indicii miclogramei	Valorile medii	Intervalele de referință
Blaste	0,6	0,1–1,1
Mieloblaste	1,0	0,2–1,7
Promielocite	2,5	1,0–4,1

Continuare

Mielocite	9,6	7,0-12,2
Metamielocite	11,5	8,0-15,0
Neutrofile nesegmentate	18,2	12,8-23,7
Neutrofile nesegmentate	18,6	13,1-24,1
Elemente neutrofile, total	60,8	52,7-68,9
Eozinofile (toate generațiile)	3,2	0,5-5,8
Bazofile	0,2	0,1-0,5
Eritroblaste (sinonim proeritroblast)	0,6	0,2-1,1
Pronormocite	0,6	0,1-1,2
Normocite bazofile	3,0	1,4-4,6
Normocite policromatofile	12,9	8,9-16,9
Normocite oxifile	3,2	0,8-5,6
Eritrocariocite (în total)	20,5	14,5-26,5
Limfocite	9,6	4,3-13,7
Plasmocite	0,9	0,1-1,8
Monocite	1,9	0,7-3,1
Reticulocite	0,9	0,1-1,6

Tabelul 3.2

**Mielograma copiilor practic sănătoși în primii 3 ani de viață, %**  
(Малаховский Ю.Е. и др., 1963)

Celule	6 ore – 5 zile	14-20 zile	3-7 luni	1 an	1,5 ani	2 ani	3 ani
1. Reticulocite	0.58-1.88	0.31-1.69	0.14-1.38	0.45-2.03	1.34-2.12	0.44-1.84	0.05-1.43
2. Blaste nediferențiate	0.7-2.14	1.32-2.32	0.59-3.51	0.854.03	1.67-3.53	1.59-3.39	1.31-2.69
3. Mieloblaste	0.82-1.84	0.22-2.08	0.71-2.75	1.47-2.65	1.15-3.63	1.62-2.98	0.75-3.25
4. Promielocite neutrofile	4.24-6.16	4.84-6.96	4.2-7.5	4.47-6.53	3.87-6.79	2.334.05	2.84-5.78
5. Mielocite neutrofile	8.06-12.34	10.14-14.6	6.94-11.46	9.13-14.47	6.41-10.23	7.21-11.33	8.46-11.86

6. Metamic- locite neu- trofile	6.82-8.78	6.75 12.25	4.61-7.73	6.8-10.2	5.27-8.59	5.45-8.47	7.11-8.97
7. Neutrofile necesgmenta- te	19.96- 25.24	16.35- 23.05	13.12- 19.8	17.64-20.16	16.0-18.8	14.76-22.44	13.98- 25.42
8. Neutrofile segmentate	18.0-23.6	10.75- 16.85	6.06-9.88	8.37-16.23	11.05 21.75	9.75-20.45	13.27- 22.53
9. Micelocite eozinofile	0.22-0.58	0.12-1.08	0.05-0.75	0.09-0.73	0.33-1.39	0.68-1.12	0.09-0.85
10. Metamic- locite eozino- file	0.33-0.81	0.61-1.79	0.08-0.78	0.36-0.96	0.4-1.6	0.67-1.35	0.66-1.54
11. Eozino- file neceseg- mentate	0.18-0.58	0.02-0.52	0.04-0.8	0.08-0.56	0.05-0.55	0.06-0.66	0.24-0.74
12. Eozinofi- le segmen- tate	1.97-3.23	0.76-2.14	1.0-2.14	1.22-2.26	0.9-3.7	1.84-3.24	1.77-3.31
13. Bazofile segmentate	0.02-0.28	0-0.27	0-0.22	0-0.09	0-0.17	0-0.02	0-0.13
14. Eritro- blaste	0.95-1.79	1.08-2.06	1.7-3.08	0.91-2.39	1.08-2.1	0.99-1.93	0.75-1.97
15. Normo- blaste							
- bazofile	2.5-5.1	2.54-3.36	2.074.62	1.73-3.47	1.93-3.32	1.33-2.41	1.44-3.44
- policro- matofile	6.85- 10.55	4.87-7.77	8.75- 15.03	7.69-10.65	7.32- 11.48	8.18-10.78	7.49- 11.21
- oxifile	5.89-9.97	5.44-7.26	3.23-8.95	4.93-8.17	5.25-9.09	5.92-8.76	4.5-10.18
6. Limfocite	1.98-3.78	9.77- 16.77	16.31- 25.25	0.21-16.39	10.2-14.8	12.15-17.85	6.68- 13.52
17. Limfo- blaste	0-0.97	0.17-0.97	0.05-2.11	0-1.71	0-1.69	0.05-1.21	0.04-1.08
18. Plasmoc- ite	0.1-0.12	0	0-0.28	0-0.22	0-0.3	0-0.33	0-0.33
19. Monocite	0-0.13	0	0-0.26	0-0.12	0-0.23	0.03-0.25	0-0.17
20. Raportul leuco-eritro- blaste	3.024.42	4.18-5.82	2.684.32	3.384.5	3.294.92	3.294.51	3.2-5.0
21. Megacari- ocite (x10 <sup>9</sup> /l)	51-108	71-107	64-216	77-161	57-141	81-99	53-113
22. Miclocari- ocite (x10 <sup>9</sup> /l)	146.5- 222.5	120-234	196-333	245.5-316.5	154-256	193-313	171-297

Tabelul 3.3

**Mielograma copiilor sănătoși cu vârsta cuprinsă între 3-14 ani, % (Паписова Д.Г., 1974)**

Celule	Vârsta, ani		
	3-6	7-14	3-14
Celule nediferențiate	0-2,0	0-2,2	0-2,2
Mieloblaste	0,8-5,0	0,8-4,0	0,8-5,0
Promielocite	0,8-5,8	0,8-5,8	0,8-5,8
Mielocite	3,4-12,0	2,6-11,8	2,6-12,0
Metamielocite	4,6-12,8	4,6-17,2	4,6-17,2
Neutrofile nesegmentate	11,0-33,0	6,8-33,0	6,8-33,0
Neutrofile segmentate	6,4-17,6	5,2-18,2	5,2-18,2
În total celule neutrofile	35,8-67,8	40,6-66,4	35,8-66,4
Mielocite eozinofile	0,2-2,8	0,2-3,0	0,2-3,0
Metamielocite eozinofile	0,2-3,0	0,2-2,6	0,2-3,0
Eozinofile nesegmentate	0,4-4,0	0-3,6	0-4,0
Eozinofile segmentate	0-3,2	0,2-2,6	0-3,2
În total celule eozinofile	1,61-12,6	0,5-8,13	0,5-12,6
Mielocite bazofile	0-0,2	0-0,2	0-0,2
Bazofile nesegmentate	0-1,2	0-1,6	0-1,6
În total celule bazofile	0-1,2	0-1,6	0-1,6
Linfocite (limfoblaste)	11,8-33,4	12,6-26,4	11,8-33,4
Monocite	0-7,8	0-6,8	0-7,8
Reticulocite	0-2,0	0-3,6	0-3,6
Plasmocite	0-1,2	0-1,6	0-1,6
Megacariocite (megacario- blaste)	0-1,0	0-2,4	0-2,4
Eritroblaste (pronormocite)	0,2-1,2	0-1,2	0-1,9
Normocite:			
-bazofile	0,4-2,8	0-2,0	0-2,0
-poliromatofile	6,6-23,0	0,2-4,8	0,2-4,8
-oxifile	0,2-3,0	7,6-22,0	6,4-23,0
În total celule ale seriei eritrocitare eritrocitare	9,8-26,0	9,6-24,4	9,6-26,0

Continuare

Numărul mielocariocitelor, $\times 10^9/l$	75-477	59-530	59-530
Numărul megacariocitelor, $\times 10^6/l$	43-235	93-225	43-235
Mitoze seria critroidă la 1000 de celule	0-3,0	0-5,0	0-5,0
Mitoze seria leucoblastică	0-3,0	0-3,0	0-3,0
Reticulocite la 1000 de eri- trocite	6-31	10-39	6-39,0

Tabelul 3.4

### Măduva hematogenă (copii)

CD markerul, (limitele min- max), %	Vârsta (ani)		
	1-5	6-10	11-15
CD2	16-51	37-72	43-76
CD4	6-33	15-39	25-48
CD8	4-22	14-33	11-30
CD10	13-41	7-28	7-23
CD19	20-68	22-44	13-32
CD20	19-40	11-31	4-17
CD21	0-14	1-14	2-14

Tabelul 3.5

### Măduva hematogenă (adulți)

CD mar- cherul	CD3	CD4	CD5	CD22	HLA- DR	CD34	CD20	
Limitele (min- max),%	21-51	14-30	11-28	17-29	10-28	0-5	3-10	
CD marker	CD16	CD25	CD7	CD19	CD10	CD13	CD14	CD33
Limitele (min- max),%	6-34	5-28	17-31	7-20	0,5-15	3-6	2-8	3-11

Tabelul 3.6

## Sângele periferic (adulți)

CD markerii limfocitelor	Valorile de referință (minime- maxime)	
	Valori relative, %	Valori absolute, $10^9/l$
CD3	60-80	1,0-2,4
CD4	33-50	0,6-1,7
CD8	16-39	0,3-1,0
CD4/CD8	1,5-2,0	
CD19	5-22	0,04-0,4
CD20	6-23	0,05-0,6
CD16	3-20	0,03-0,5
CD56	5-25	0,045-0,7
CD25	7-18	0,06-0,4
HLA-DR	9-28	0,1-0,75

Tabelul 3.7

## Sângele periferic (copii de vârstă timpurie – până la 1,5 ani)

Vârsta (luni)	Limitele (minime- maxime), %				
	CD2	CD3	CD4	CD8	CD19
0-6	55-88	55-82	50-57	8-31	11-45
6-12	55-88	55-82	49-55	8-31	11-45
12-18	55-88	55-82	46-51	8-31	11-45
18-24	55-88	55-82	42-48	8-31	11-45
24-30	55-88	55-82	38-46	8-31	11-45
30-36	55-88	55-82	33-44	8-31	11-45

Tabelul 3.8

## Sângele periferic (copii)

CD markerii limfocitelor	Vârsta (ani)			
	1-6 ani		7-17 ani	
	%	$10^9/l$	%	$10^9/l$
CD3	62-69	1,82-3,01	63-69	1,75-3,09



*Continuare*

CD4	30-40	1,02-1,84	39-47	0,83-2,11
CD8	25-32	0,81-1,52	23-29	0,49-1,3
CD4/CD8	1,0-1,6		1,4-2,0	
CD20	21-28	0,74-1,33	10-14	0,21-0,62
CD56	8-15	0,21-0,64	6-17	0,12-0,76
HLA DR	8-12	0,34-0,56	10-16	0,21-0,71

## BIBLIOGRAFIE

1. Corcimarul I. Hematologie, 2007, Chșinău, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina”, 388 p.
2. Corcimarul I. Anemiile, 2003, 160 p.
3. Petrov I. Iubomir. Manual de hematologie clinică, Editura Cărții de știință, Cluj-Napoca, 1992, 182 p.
4. Popescu Delia Mut. Hematologie clinică, ediția a II-a, editura medicală, București, 2002, coli tipar 21,25.
5. Долгов В.В., Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная диагностика анемий, изд. «Юнимед пресс», Москва, 2001, 82 с.
6. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии, том. 1, 2005, 326 с.
7. Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная диагностика лейкозов, 2000, 78 с.
8. Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная гематология, 2002, 112 с.
9. Шифман Фред Дж. Патфизиология крови. Москва, 2001, 431 с.
10. Шона К., Андерсон К., Поулсен Б. Атлас гематологии, издательство «Логосфера», Москва, 2007, 577 с.